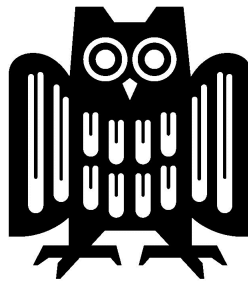


Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. T. Vogt)
Klinische Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

Die Expression von Maspin in malignen Melanomen



**Inauguraldissertation zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2013**

vorgelegt von: Tobias Michael Knöpfen
geb. am 01.06.1985 in Kaiserslautern

Non est ad astra mollis e terris via

Seneca, „Hercules furens“

I) Inhaltsverzeichnis

I) Inhaltsverzeichnis.....	4
II) Abkürzungsverzeichnis	6
1) Zusammenfassung.....	9
1.1) Zusammenfassung (deutsch)	9
1.2) Summary (english)	10
2) Einleitung und Fragestellung	12
2.1) Aufbau der Haut und Pathogenese des malignen Melanoms	12
2.2) Definition und Klassifikation von Melanomen	14
2.3) Epidemiologie und Bedeutung.....	16
2.4) Diagnostik.....	19
2.5) Klinik, Subtypen und Prognose	23
2.5.1) Tumordicke nach Breslow	26
2.5.2) Clark-Level	26
2.5.3) Weitere prognostische Kriterien	28
2.5.4) Prognose	29
2.6) Histopathologie.....	31
2.7) Immunhistochemie	33
2.8) Maspin	35
2.8.1) Allgemeines.....	35
2.8.2) Die Expression von Maspin in der Haut und bei Hautveränderungen	39
2.9) Ziele und Fragestellung der Arbeit	42
3) Material und Methodik.....	43
3.1) Auswahlkriterien	43
3.2) Patienten	43

3.3) Schnitte.....	45
3.4) Entparaffinierung	45
3.5) Färbungen	45
3.5.1) Hämalaun-Eosin (HE)	46
3.5.2) Maspin	46
3.6) Nachbereitung	46
3.7) Geräte und Chemikalien.....	48
4) Ergebnisse	50
4.1) Maspin-Expression in unterschiedlichen Hautschichten	50
4.2) Maspin-Expression bei den verschiedenen Melanom-Subtypen.....	56
4.3) Korrelationen der Maspinexpression mit Staging- und Grading-Parametern	59
4.3.1) Korrelation mit TNM-Stadium	59
4.3.2) Korrelation mit Clark-Level	60
4.3.3) Korrelation mit Eindringtiefe nach Breslow	61
4.4) Korrelation mit Metastasierung und Tod.....	63
5) Diskussion	68
6) Anlagen	77
6.1) Abbildungsverzeichnis.....	77
6.2) Tabelle mit allen Patientendaten	81
6.3) Studien über Maspin als Tumorsuppressorgen / Onkogen	82
6.3.1) Tumorsuppressive Eigenschaften (Auswahl).....	82
6.3.2) Onkogene Eigenschaften (Auswahl):.....	84
6.4) Literaturliste	87
7) Publikationen / Poster	117
8) Danksagung.....	118

II) Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°	Grad
2AK	Antikörper (sekundär)
5-Aza-dC	5-Aza-2'-Desoxycytidin
ADF	Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Forschung
ADO	Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Onkologie
AJCC	American Joint Committee on Cancer
ALM	Akrolentigiöses malignes Melanom
AMM	Amelanotisches malignes Melanom
Aqua dest.	Destilliertes Wasser
BCL-2	B-Cell Lymphoma 2
BRD	Bundesrepublik Deutschland
CA	Karzinom
CDK4	Cyclin-Dependent Kinase 4
CDKN2A	Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A
cm	Zentimeter
CpG	Cytosin-phosphatidyl-Guanin
d.h.	Das heißt
DCC	Deleted in Colorectal Carcinoma
DK	Dänemark
DNA	Desoxyribonukleinsäure (<i>Deoxyribonucleic Acid</i>)
DPC4	Deleted in Pancreatic Carcinoma 4
DPW	Dermatoskopischer (bzw. Dermatoskopie-) Punktwert
Ggf.	Gegebenenfalls
gp100	Glykoprotein 100
HE	Hämatoxylin-Eosin

HMB	Human Melanoma Black
HTZ19d	Melanom-Zelllinie HTZ19d (Eigenname)
IgG2a	Immunglobulin Isotyp G2a
kDa	Kilodalton
Ki-67	Kiel Zellklon 67
Kum.	Kumuliert
LK	Lymphknoten
LM	Lentigo maligna
LMM	Lentigo-maligna-Melanom
m ²	Quadratmeter
MAA	Melanoma Associated Antigen
MART1	Melanoma Antigen Recognized by T-Cells 1
Maspin	Mammary Serin Protease Inhibitor
Me/Mel (...)	Melanom-Zelllinie (...) (Eigennamen)
Melan A	Melanocyte Antigen
MIA	Melanoma Inhibitory Activity
MIB1	Made in Borstel 1
MITF	Microphthalmia Transcription Factor
µm	Mikrometer
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
n.a.	Nicht angegeben
n	Anzahl
NMM	Nodulär malignes Melanom
OAS	Gesamtüberleben (<i>Overall Survival</i>)
p	Pathologisch
p53	Protein 53
PAI-2	Plasminogen Activator Inhibitor-2

PAR-1	Protease-aktivierter Rezeptor 1
PCNA	Proliferating Cell Nuclear Antigen
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PFS	Progressionsfreies Überleben (<i>Progression-Free Survival</i>)
RCL	Reaktive Seitenkette (<i>Reactive Center Loop</i>)
RNA	Ribonukleinsäure (<i>Ribonucleic Acid</i>)
s.o.	Siehe oben
S100	Soluble 100%
SCCA	Squamous Cell Carcinoma Antigen
SERPIN B5	Serin Protease Inhibitor Clade B Member 5
SK Mel	Skin Melanoma Cell Line
SSM	Superfiziell spreitendes malignes Melanom
TANS	Thorax / Rumpf – Arm – Nacken – Kopf (<i>Thorax / Trunc – Arm – Neck - Scalp</i>)
TNM	Tumor – Lymphknoten – Metastasen (<i>Tumor – Nodes – Metastasis</i>)
uPA	Urokinase-Typ Plasminogen Aktivator
uPAR	Urokinase-Typ Plasminogen Aktivator Rezeptor
USA	Vereinigte Staaten von Amerika (<i>United States of America</i>)
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
vs.	versus
x	-fache Vergrößerung
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

1) Zusammenfassung

1.1) Zusammenfassung (deutsch)

Die Maspinexpression im invasiven Teil von primären Melanomen geht mit einem aggressiven Tumor-Phänotyp einher

Das Serpin Maspin ist ein zu den Serin-Protease-Inhibitoren zählendes Protein, welche eine entscheidende Rolle bei der Tumordinvasion und Metastasierung spielen.

Die Rolle von Maspin bei verschiedenen Tumoren und Tumorentitäten wurde kontrovers diskutiert. In der Mehrzahl der untersuchten Tumoren scheint Maspin als Tumorsuppressor zu fungieren. Jedoch ist die Studienlage über die Expression von Maspin in malignen Melanomen ebenso wie seine Funktion beim Melanom sehr inkonsistent.

Im Zuge dieser Arbeit sollte die Expression von Maspin in primären malignen Melanomen untersucht werden und die Intensität der Expression mit prognostischen Parametern des Primärtumors sowie dem progressfreien und Gesamt-Überleben korreliert werden. Dazu wurden Melanome von 47 Patienten auf ihre Maspinexpression mittels Immunhistochemie untersucht.

Maspin wurde heterogen prädominant im Zytoplasma der Tumorzellen exprimiert. Die Intensität der Färbung im invasiven Abschnitt des Primärtumors korrelierte mit histologischen Prognoseparametern wie dem Clark-Level und der Tumordicke.

Außerdem zeigte die Maspinexpression im invasiven Tumorpart eine signifikante Korrelation mit einem verkürzten Gesamtüberleben.

In Übereinstimmung mit Studienergebnissen zur Maspinexpression bei kolorektalen Karzinomen scheint die Expression von Maspin im invasiven Tumorpart primärer Melanome eine wichtige Rolle für die lokale Ausbreitung und Aggressivität des Tumors zu spielen. Eine starke Maspinexpression im invasiven Abschnitt primärer Melanome könnte ein Hinweis auf einen aggressiven Tumor-Phänotyp sein.

1.2) Summary (english)

Maspin expression in the invasive margin of primary melanomas may reflect an aggressive tumour phenotype

The serpin maspin belongs to the serine protease inhibitor superfamily playing a decisive role in invasion and metastasis of malignancies.

The role of maspin has been discussed controversially in different tumours. In the majority of malignant tumours investigated maspin seems to act as a tumour suppressor. However, data about maspin expression in melanoma as well as its function in melanoma are very inconsistent.

It has been our objective to investigate the expression of maspin in primary melanomas and to correlate the intensity of maspin staining with prognostic parameters of the primary tumour and with progress-free and overall survival.

Primary melanomas from 47 patients were investigated for maspin expression using immunohistochemistry.

Maspin was heterogeneously expressed predominantly in the cytoplasm of melanoma cells. Maspin staining intensity in the invasive part of the tumour correlated with histological parameters of prognosis such as Clark's level and tumour thickness. Furthermore, maspin staining intensity in the invasive front of the tumour significantly correlated with shortened overall survival.

In accordance with data concerning maspin expression in colorectal cancers, the expression of this protein in the invasive front of primary melanomas seems to be important for local tumour infiltration and the aggressiveness of the tumour. Strong maspin expression in the invasive margin of primary melanomas therefore might reflect an aggressive tumour phenotype.

2) Einleitung und Fragestellung

2.1) Aufbau der Haut und Pathogenese des malignen Melanoms

Mit einer Flächenausdehnung von bis zu 2 m² stellt die Haut das größte Organ des menschlichen Organismus dar. Als Grenzfläche nimmt sie eine Schutz- und Barrierefunktion vor äußeren Einflüssen wahr. Hierzu trägt auch die residente Hautflora aus Mikroorganismen bei. Außerdem dient die Haut dem Stoffaustausch und damit der Homöostase des Körpers, reguliert den Wärmehaushalt, ist Teil des Immunsystems und ein wesentliches Sinnesorgan. Hierfür sind eine Vielzahl an Strukturen wie freie Nervenendigungen, Wärme- und Kälterezeptoren, Talgdrüsen und Kapillaren verantwortlich.

Die Haut (lateinisch *Cutis*, griechisch *δέρμα/derma*) setzt sich aus der Epidermis (Oberhaut) und der Dermis (Lederhaut) zusammen. Daran schließt sich nach innen die Subcutis (Unterhautgewebe) an.

Die Epidermis, ein mehrschichtig verhorntes Plattenepithel mit variabler Dicke je nach Lokalisation im Bereich des Integuments, besteht aus fünf Schichten. Von basal nach apikal sind dies Stratum basale (Basalschicht), Stratum spinosum (Stachelzellschicht), Stratum granulosum (Körnerzellschicht), Stratum lucidum (Glanzschicht) und Stratum corneum (Hornschicht). Sie besteht im Wesentlichen aus

Keratinocyten (sowie in geringem Maße Melanozyten, Langerhans-Zellen, Merkel-Zellen und Lymphocyten), ist gefäßfrei und unterliegt als Proliferationsgewebe einer beständigen Erneuerung.

Daran schließt sich die Dermis an, die sich in Stratum papillare und Stratum reticulare unterteilen lässt. Sie besteht aus dermalen Zellen wie Fibroblasten, Histiozyten und Mastzellen sowie aus Kollagen- und elastischen Fasern, die durch die dermale Matrix zusammengehalten werden (Abbildung 1). Im Gegensatz zur Epidermis enthält die Dermis ein Gefäß-Plexus-System, das den Metabolismus sicherstellt.

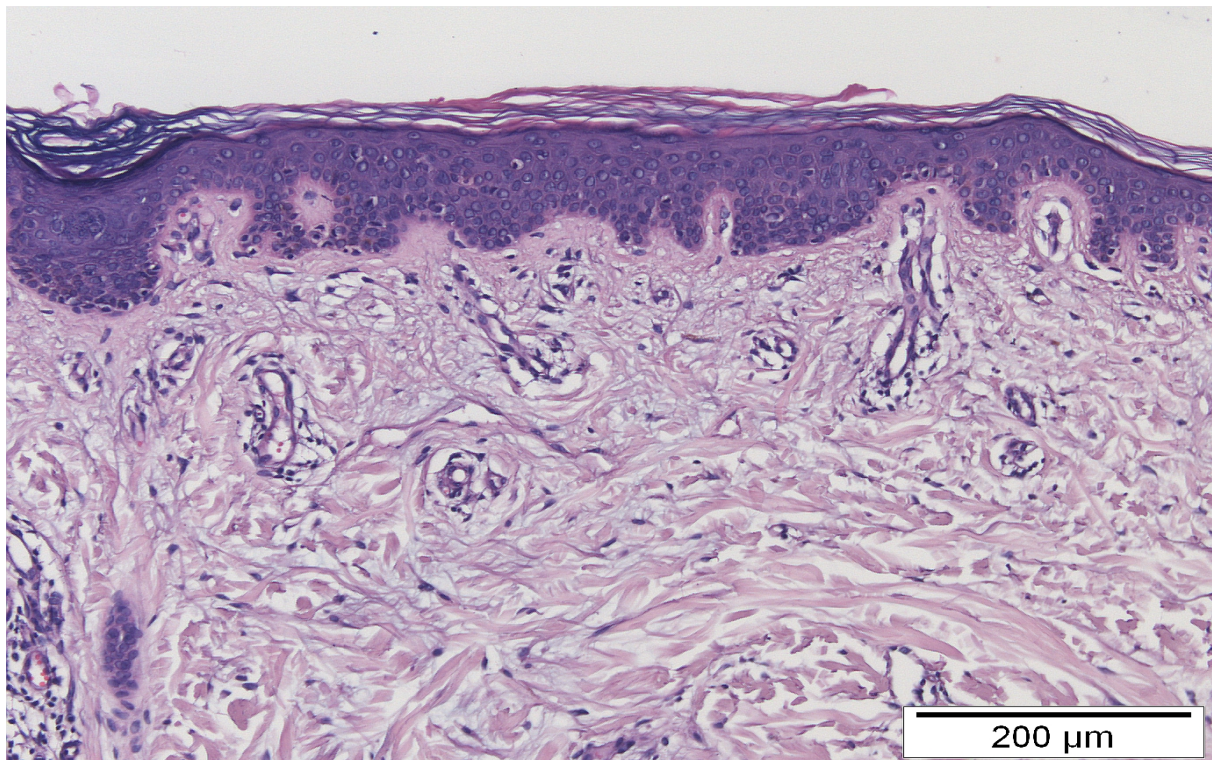


Abbildung 1: Aufbau der Haut (normale Felderhaut). Eigene Darstellung, Färbung: HE, Vergrößerung: dem Maßbalken im Bild entsprechend.

Die Pigmentzellen der Haut sind die Melanozyten (griechisch: μέλας/*melas* = schwarz). Sie befinden sich vor allem im Stratum basale und synthetisieren das Enzym Tyrosinase für die Melaninbildung.

Melanozyten sind in der Pathogenese zahlreicher benigner und maligner Hauterkrankungen beteiligt, z.B. bei Hyperpigmentierungen und Naevi. Das bedeutendste Krankheitsbild stellt das maligne Melanom (schwarzer Hautkrebs) dar. Hierbei vermehren sich im Zuge einer melanozytären Hyperplasie atypische Melanozyten zunächst in den basalen Epidermislagen und breiten sich schließlich in allen Lagen der Epidermis aus. Wird die dermoepidermale Junktionszone überschritten und die Dermis erreicht, liegt ein invasives Melanom vor.

2.2) Definition und Klassifikation von Melanomen

Maligne Melanome sind von den Melanozyten ausgehende hochgradig maligne Tumoren. Der wichtigste Prognosefaktor der meisten bösartigen Tumoren ist die Metastasierung, so auch beim Melanom. Darunter versteht man die Entstehung von Tochtertumoren, die als Metastasen (griechisch: μετα/*meta* = entfernt, στασι/*stase* = Ort) oder Filiae (lateinisch: *filia* = Tochter) bezeichnet werden.

Melanome metastasieren frühzeitig. Dies erfolgt in 70% der Fälle über das Lymphsystem (lymphogen, hiervon zu 50% in die regionären Lymphknoten, zu 20% als Satelliten- oder In-transit-Metastasen) und in 30% über das Blutssystem (hämatogen) als primäre Fernmetastasierung (LEITER 2004).

Grundsätzlich unterscheidet man sowohl bei lokoregionären als auch bei juxta regionalen Filiae zwischen Mikro- und Makrometastasen: Makrometastasen sind im Gegensatz zu Mikrometastasen entweder klinisch tastbar (bzw. durch Bildgebung sichtbar) oder weisen im Falle eines Lymphknotenbefalls extrakapsuläres Wachstum auf.

Die Metastasierung tritt oft zunächst lokal um den Primärtumor auf, was man als Satelliten-Metastasen bezeichnet (Abstand <2 cm vom Primarius), dann kutan und/oder subkutan zwischen Primärtumor und regionären Lymphknoten (sog. In-Transit-Metastasen).

Eine viszerale Fernmetastasierung kann grundsätzlich in jedem Organ auftreten, betroffen sind beim malignen Melanom oft Lunge, Leber, Gehirn und Knochen. Diese Fernmetastasierung kann solitär oder disseminiert manifest werden.

Ein entscheidender Risikofaktor für die Entstehung von malignen Melanomen ist eine vermehrte UV-Exposition (THOMPSON 2005, TUCKER 2003), wobei AUTIER 1994 und GANDINI 2005 zeigen konnten, dass dies vor allem intermittierende hohe Dosen betrifft (v.a. in der Kindheit), während das Risiko bei chronischer Sonnenexposition sogar sinkt.

Als weiterer Risikofaktor gilt die Anzahl melanozytärer Naevi am Körper (z.B. CARLI 2002). In einer Metaanalyse konnte OLSEN 2010 ein relatives Risiko für die Melanomentstehung von 3,63 bei Vorliegen eines oder mehrerer atypischer Naevi aufzeigen, wobei das relative Risiko mit jedem weiteren normalen Naevus um 1,017 anstieg. NEWTON-BISHOP ermittelte 2010 eine Odd's Ratio für die Entstehung eines malignen Melanoms von 10,02 zwischen den 25% der Patienten mit der höchsten Anzahl an Naevi und den 25% der Patienten mit der niedrigsten Anzahl an Naevi innerhalb einer Stichprobe.

Weitere Risikofaktoren sind Sommersprossen (ELWOOD 1986) und aktinische Lentigines (GARBE 1989). Bei familiärer Häufung konnte THOMPSON 2005 außerdem teilweise einen Zusammenhang zwischen erblichen Mutationen auf den Genen CDKN2A und CDK4 beschreiben, die mit einem stark erhöhten (allgemeinen und melanomspezifischen) Krebsrisiko einhergingen, gesichert ist auch eine Häufung beim hereditären Syndrom der dysplastischen Naevi (BATAILLE 1996). BOYNTON konnte 2011 ein starkes Risiko bei regelmäßiger Solariumbenutzung nachweisen.

2.3) Epidemiologie und Bedeutung

Maligne Tumoren und damit auch Tumoren der Haut sind keine Neuerscheinungen unserer Zeit bzw. Zivilisationskrankheiten, sondern bereits aus der Altsteinzeit bekannt. 1966 wies URTEAGA Metastasen eines Melanoms in einem peruanischen Schädelfund aus der frühen Inka-Zeit nach; REITZ beschreibt 2007 das Auftreten verschiedener Hauttumoren in den alten Hochkulturen Roms, Griechenlands, Ägyptens und Chinas.

Bis vor wenigen Jahrzehnten galt das Melanom als relativ selten: In den 30er Jahren betrug die Inzidenz in Mitteleuropa noch 1-2/100.000, stieg jedoch weltweit kontinuierlich (Abbildung 2) über 5/100.000 (60er Jahre) auf 7-14/100.000 (80er Jahre) an.

Heute zählt es nach GARBE (2001) mit einer Inzidenz von 12-20/100.000 in Deutschland zu den häufigen soliden Tumorentitäten.

International gesehen existieren erhebliche Unterschiede bezüglich der Inzidenz je nach geografischer Lage.

Altersstandardisierte Erkrankungsraten und Mortalität am malignen Melanom der Haut,
Saarland 1970–2000, gleitende Mittelwerte
Angaben pro 100.000 Einwohner
Quelle: Krebsregister Saarland

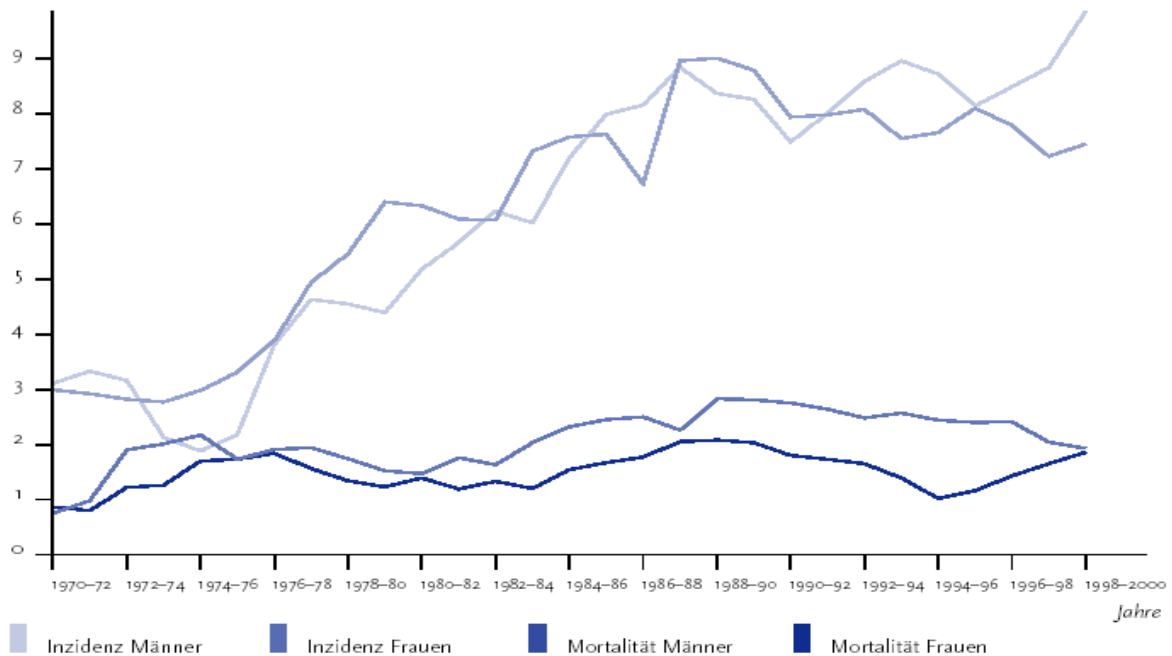


Abbildung 2: Inzidenz des malignen Melanoms 1970-2000 (Robert-Koch-Institut nach Zahlen des Saarländischen Krebsregisters, BREITBART 2004)

In Australien beträgt die Inzidenz rund 50/100.000, womit dort das Melanom die vierthäufigste maligne Tumorerkrankung darstellt. FLÓREZ bezeichnete dies 2004 bereits als „Melanom-Epidemie“. Ursächlich für die hohe Inzidenz dürfte neben dem geänderten Freizeitverhalten in den letzten Jahrzehnten auch das Ozonloch und die damit verbundene erhöhte UV-Exposition (NARAYANAN 2010) sein. Die Vermutung, dass dafür vor allem die helle Hautfarbe der keltischen Einwanderer verantwortlich sei, konnten DOBSON 1982 sowie LONG 1995/1998 nicht bestätigen.

Bereits seit rund 30 Jahren existieren in Australien Werbekampagnen zur Prävention von Hautkrebs. Dies führte durch ein geändertes Verhalten der Bevölkerung zuletzt erstmalig sogar zu einem Rückgang der Melanominzidenz bei jungen Erwachsenen und Kindern (CZARNECKI 2000, BAADE 2011).

Ein Sinken der Inzidenz in Mitteleuropa ist nach aktuellen Analysen nicht zu erwarten. Stattdessen ist vielmehr weiterhin von einem deutlichen Anstieg auszugehen (GARBE 2006a).

Das Melanom ist heute der Tumor mit der am schnellsten ansteigenden Inzidenz aller Malignome (GARBE 2006b). DIFFEY schätzte 2004 für Großbritannien ab, dass sich im Verlauf der nächsten drei Dekaden die Inzidenz verdoppeln wird.

Melanome betreffen gleichermaßen Männer wie Frauen, bevorzugt im mittleren Lebensalter (Median Mitte 50 Jahre), wobei auch bereits Kinder erkranken können. Prädilektionsstelle ist bei Männern meist die TANS-Region (*thorax (back and breast), (upper) arm, neck, scalp*), bei Frauen meist die untere Extremität (ULRICH 2006). Grundsätzlich können Melanome jedoch überall dort auftreten, wo Melanozyten vorhanden sind, auch an den Schleimhäuten, im Zentralen Nervensystem, an inneren Organen und als Aderhaut- oder Bindehautmelanom am Auge.

Im Gegenzug zur steigenden Inzidenz konnte BOSETTI 2004 eine gleichbleibende bis sogar sinkende Mortalitätsrate feststellen. 2009 zeigte GARBE eine vermehrte Anzahl an Erstdiagnosen von Melanomen mit geringerer Tumordicke sowie eine sinkende Mortalität. Somit dürfte die in Deutschland stagnierende Mortalität im Wesentlichen auf einer verbesserten Früherkennung prognostisch günstigerer dünnerer Melanome beruhen.

2.4) Diagnostik

Die Diagnose des Melanoms erfolgt in der Regel zunächst klinisch-inspektorisch anhand der ABCD(E)-Regel (FRIEDMAN 1985, BRODELL 1998).

Hierbei wird beurteilt (Abbildung 3), ob eine Läsion symmetrisch oder asymmetrisch aufgebaut ist (A), ob die Randbegrenzung unscharf oder scharf verlaufend ist (B), ob das Kolorit gleichmäßig ist oder variiert (C), wie groß der Gesamtdurchmesser ist (D), ob sich eine Größenentwicklung ergeben hat oder ob die Läsion über das Hautniveau herausragt (E). Je mehr dieser Kriterien sich als zutreffend erweisen, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass ein malignes Melanom vorliegt. Bereits bei eigenanamnestischem Zutreffen von 3 Kriterien wird zu einer weitergehenden dermatologischen Diagnostik geraten.

Für melanomsuspekte Hautveränderungen im Bereich der Nägel und für die gemäß der ABCDE-Regel nicht identifizierbaren amelanotischen Melanome existieren jeweils eigene Schemata.

A	=	Asymmetrie
B	=	Begrenzung (unscharf/unregelmäßig)
C	=	Colorit (unterschiedlich)
D	=	Durchmesser (>5 mm)
E	=	Rasche Evolution in den letzten 3 Monaten auch: Erhabenheit

Abbildung 3: ABCDE-Regel (eigene Darstellung nach BRODELL 1998)

Die Verdachtsdiagnose sollte nach inspektorischer Begutachtung des ganzen Körpers von Kopf bis Fuß dermatoskopisch weiter abgesichert werden (BLUM 2003a). Hierbei wird mit Hilfe einer Lupe, einer Glasplatte und unter Verwendung von

Kontaktflüssigkeit die Haut bis zum oberen Stratum reticulare begutachtet. Ein Malignitätsverdacht stellt sich hierbei durch einen erhöhten dermatoskopischen Punktwert (DPW, ermittelt über eine Gewichtung der histopathologischen ABCD-Regel) dar, als Schlüsselkriterien gelten außerdem Gefäßmuster und Regression. Insgesamt sind über 70 morphologische Kriterien für die Dermatoskopie etabliert (ARGENZIANO 2003). In einem ersten Schritt ist zwischen melanozytären und nichtmelanozytären Läsionen zu unterscheiden (BLUM 2005), wozu es unterschiedliche Algorithmen durch KREUSCH (1991) und STOLZ (2004) gibt. KREUSCH entwickelte 1991 die taxonomische Differenzierung: Wenn mindestens eines der Kriterien mit der entsprechenden Farbe kombiniert ist (Abbildung 4), liegt nach Aussage des Autors eine melanozytäre Läsion vor.

Kriterium	Farbe
Retikuläres Netz	Braun
Globuli/Schollen	Schwarz
Homogene Pigmentierung	Stahlblau / Grau

Abbildung 4: Diagnostische Taxonomie zur Beurteilung von Hautläsionen (eigene Darstellung nach BLUM 2005)

STOLZ entwickelte 2004 einen Algorithmus zur Unterscheidung zwischen melanozytären und nichtmelanozytären Hautveränderungen (Abbildung 5).

Schritte	Kriterium	Bedeutung
1. Schritt	Pigmentnetz Verzweigte Streifen Aggregierte Schollen (Ausnahmen: Dermatofibrom, akzessorische Mamille)	Melanozytäre Hautveränderungen
2. Schritt	Stahlblaue Areale	Blauer Naevus
	Pseudohornzysten Pseudofollikuläre Öffnungen Gyri und Sulci Fingerabdruck-ähnliches Muster Mottenfraßartige Begrenzung Gelee-Zeichen	Seborrhoische Keratose
	Lakunen (rot / blaurot / rotschwarz)	Hämangiom
	Ahornblattartige Strukturen Größere baumartig verzweigte oder dünne oberflächliche Gefäße Schiefergraue ovoide Strukturen oder größere Areale Radspeicherartige Strukturen Ulzerationen	Basalzellkarzinom
3. Schritt	Keine der genannten Strukturen	Melanozytäre Hautveränderungen

Abbildung 5: Mehrstufiger Algorithmus zur Beurteilung von Hautläsionen (eigene Darstellung nach STOLZ 2004)

Im zweiten Schritt erfolgt die Analyse mit Dignitätseinteilung anhand diverser Algorithmen und Scores, aufbauend auf der Musteranalyse nach PEHAMBERGER 1987. Als Kriterien für die Dignität legte er ein pigmentiertes Netzwerk, braune

Globuli, radiäre Streifen, Pseudopodien, schwarze Punkte („black dots“), den Rand und die Pigmentierung / Depigmentierung fest und berücksichtigte dabei jeweils die Anordnung und die Lage (peripher/zentral).

NACHBAR entwickelte 1994 die ABCD-Regel für die Dermatoskopie, die im Vergleich zur ABCD-Regel der Beurteilung mit dem bloßen Auge nach FRIEDMAN (1985) eine erhöhte Treffsicherheit aufweist (STOLZ 2004). Hier werden die vier Kriterien Asymmetrie (A), Begrenzung (B), Farbe (C) und Differenzialstrukturen (D) beurteilt und mit unterschiedlicher Gewichtung ($A \cdot 1,3 + B \cdot 0,1 + C \cdot 0,5 + D \cdot 0,5$) zum Dermatoskopie-Punktwert (DPW) zusammengefasst.

Ähnliche Scores wurden 1996 von MENZIES, 1998 von ARGENZIANO, 1999 von DAL POZZO, 2001 von HOFMANN-WELLENHOF und 2004 von SOYER entwickelt.

Eine weitere Klassifikation, die modifizierte ABC-Regel, mit dem Ziel der Vereinfachung vorheriger Algorithmen bei identischer Treffsicherheit wurde 2003b von BLUM entwickelt (Abbildung 6), wobei ab 4 Punkten ein Malignitätsverdacht vorliegt.

Kennzeichen	Kriterium	Punkte
A	Asymmetrie	1
(A)	Asymmetrie innerhalb der Läsion	1
B	Begrenzungsabbruch	1
C	Color (mind. 3)	1
D	Differenzialstrukturen (mind. 3)	1
E	Evolution	1
	Keine / unsichere Angaben	0
	Unverändert	-1

Abbildung 6: Modifizierte ABC-Regel (eigene Darstellung nach BLUM 2003b)

Eine Sicherung der Diagnose gelingt jedoch nur durch die histologische Untersuchung der exzidierten Hautveränderung unter Zuhilfenahme immunhistologischer Methoden.

2.5) Klinik, Subtypen und Prognose

Beim malignen Melanom werden vier Subtypen unterschieden (Abbildung 7, Abbildung 8-11, Abbildung 12). Diese Einteilung wurde bereits 1969 von CLARK postuliert, 1976 von REED erweitert und seither wiederholt bestätigt (GARBE 1995, KUCHELMEISTER 2000).

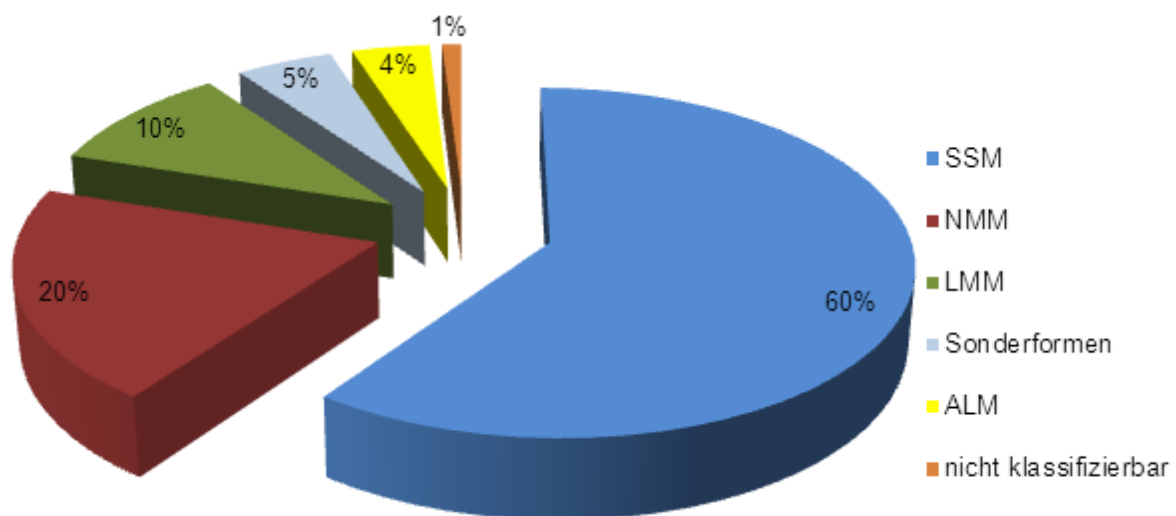


Abbildung 7: Häufigkeit der Melanom-Subtypen (eigene Darstellung, gerundet nach GARBE 1995 / 2001 / 2006a / 2009)

- a) Das primär nodulär maligne Melanom (**NMM**, 20%)
hat durch sein rasches vertikales Wachstum die schlechteste Prognose. Hierbei entwickelt sich relativ rasch eine knotige Struktur entweder aus einem bereits vorhandenen Naevus oder *de novo*.
- b) Das superfiziell spreitende maligne Melanom (**SSM**, 60%)
schreitet initial nur langsam horizontal voran, weshalb insbesondere Frühformen eine gute Prognose aufweisen. Es handelt sich um einen flachen Tumor, der später noduläre Anteile ausbilden kann.
- c) Das Lentigo-maligna-Melanom (**LMM**, 10%)
verhält sich prognostisch ebenso wie das SSM. Das LMM entwickelt sich aus einer Lentigo maligna (Melanosis praeblastomatosa Dubreuilh), ist in der Regel eher flach und bevorzugt in chronisch lichtexponierten Lokalisationen bei älteren Menschen zu finden.
- d) Das akrolentigiöse maligne Melanom (**ALM**, 4%)
ist zwar prinzipiell prognostisch günstiger zu beurteilen als das NMM, wird jedoch aufgrund seiner Lokalisationen (v.a. Phalangen, Schleimhäute) oft erst im Spätstadium mit höherer Tumordicke diagnostiziert. Bei Asiaten und Afrikanern ist es die häufigste Melanomform.
- e) Daneben existieren noch **Sonderformen** (5%)
wie das AMM (Amelanotisches malignes Melanom, bei dem kein Melanin produziert wird), Aderhautmelanome sowie Melanome auf großen kongenitalen Naevi und den sichtbaren Schleimhäuten.
- f) Ca. 1% der Melanome lassen sich keiner Kategorie zuordnen und werden somit als nicht klassifizierbare Melanome (*melanoma of uncertain classification*) bezeichnet.

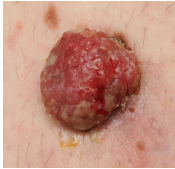
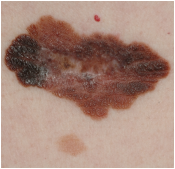
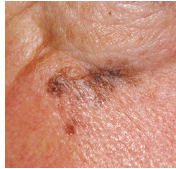

	NMM	SSM	LMM	ALM
Häufigkeit	20%	60%	10%	5%
Bevorzugte Lokalisationen	Rücken, Brust, Extremitäten	Rücken, Brust, Extremitäten	sonnenexponierte Areale	Phalangen, Handinnenflächen, Fußsohlen, Schleimhäute
Entstehung	Monate bis wenige Jahre	wenige Jahre	Jahrzehnte	aggressiv
Mittleres Erkrankungsalter	55 Jahre	50 Jahre	68 Jahre	63 Jahre
Klinik	meist blauschwarzer glatter Knoten mit starker Blutungsneigung	weißgrauer bis blauschwarzer Tumor, flach, scharf begrenzt, ggf. mit nodulären Anteilen	planer, relativ großer (2–6 cm) Tumor, Farbe variabel, Knötchenanteile, aus LM entstanden	ähnlich LMM, aber aggressiver
Wachstum	rasch vertikal	langsam horizontal	sehr langsam horizontal	erst horizontal, dann vertikal
Prognose	sehr schlecht	relativ gut	gut	sehr schlecht (späte Diagnose)
Histologie	spindelförmige / epitheloidzellige / kleine Zellen	große, zytoplasmareiche, „pagetoide“ Melanomzellen	spindelförmige Melanomzellen mit pleomorphen, hyperchromatischen Kernen	ähnlich LMM
Foto	 <p>Abbildung 8: NMM (Wade, eigenes Foto)</p>	 <p>Abbildung 9: SSM (Bauch, eigenes Foto)</p>	 <p>Abbildung 10: LMM (Wange, eigenes Foto)</p>	 <p>Abbildung 11: ALM (Daumen, eigenes Foto)</p>

Abbildung 12: Eigenschaften der Melanom-Subtypen (eigene Darstellung nach MOLL 2005)

2.5.1) Tumordicke nach Breslow

Grundsätzlich stellt die 1970 von BRESLOW beschriebene Tumordicke das wichtigste prognostische Kriterium beim Melanom dar. Diese ist im mikroskopischen Präparat definiert als die vertikale Distanz zwischen dem Stratum granulosum der Epidermis und der am tiefsten ins Gewebe invasiven Tumorzelle und wird in Millimetern angegeben.

Erstmalig veröffentlicht wurde diese Einteilung von dem amerikanischen Pathologen Alexander Breslow. Er unterteilte die Tiefe noch in vier Stufen ($<0,75$ mm, $0,75 - 1,5$ mm, $1,5 - 4$ mm, >4 mm) und ordnete diesen Stadien unterschiedliche prognostische Aussagen zu.

Die prognostische Relevanz der Tumordicke wurde wiederholt bestätigt (z.B. BALCH 1978, TRONNIER 1997) und wird beispielsweise in den Leitlinien der ADO (Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Onkologie, GARBE 2008) und des AJCC (American Joint Committee on Cancer, PIRIS 2011) als diagnostisches Kriterium hervorgehoben.

2.5.2) Clark-Level

Die von CLARK (1969) aufgestellte Klassifizierung ordnet invasive Melanome gemäß ihrer Eindringtiefe in Bezug auf die Hautschichten in Level von I bis V (Abbildung 13, Abbildung 14).

Liegen Tumorzellen ausschließlich in der Epidermis vor, handelt es sich um ein In-situ-Melanom (I). Die nächsten Level sind das Eindringen in das Stratum papillare (II) und dessen vollständiges Durchsetzen (III). Daran schließt sich ein Fortschreiten bis in das Stratum reticulare (IV) und in das subkutane Fettgewebe (V) an.

Level I	Tumorzellen nur in der Epidermis (<i>in situ</i>)
Level II	Eindringen bis in das Stratum papillare
Level III	Durchsetzen des gesamten Stratum papillare
Level IV	Tumorzellen bis in das Stratum reticulare
Level V	Tumorzellen bis in das subkutane Fettgewebe

Abbildung 13: Klassifizierung nach CLARK (deskriptiv). Eigene Darstellung nach CLARK 1969.

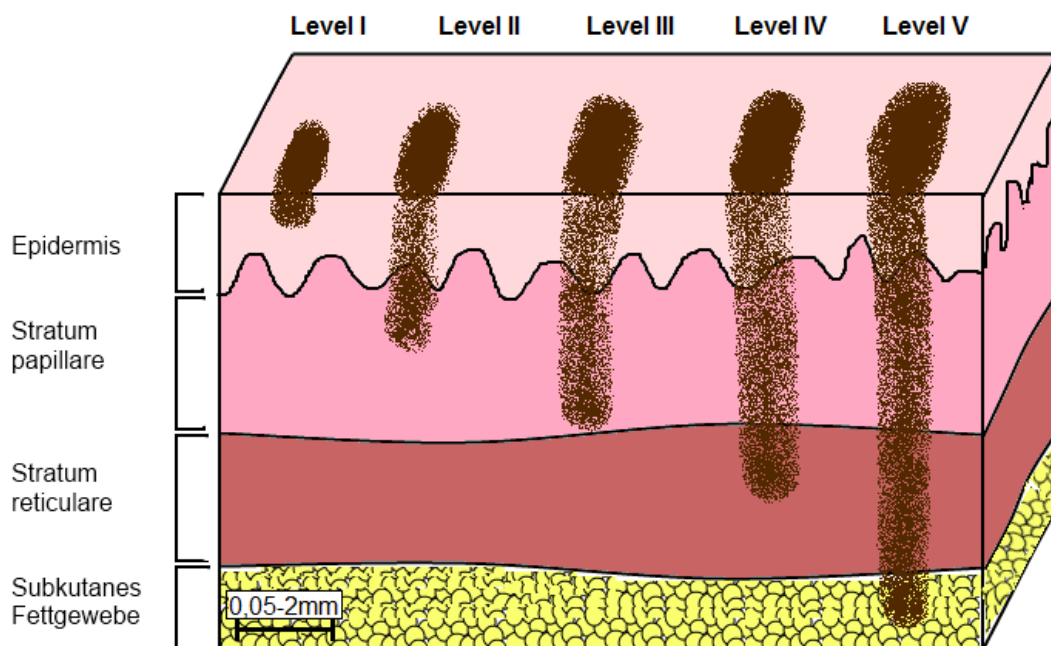


Abbildung 14: Klassifizierung nach CLARK (grafisch). Eigene Darstellung nach CLARK 1969. Vergrößerung: dem Maßbalken im Bild entsprechend (Dicke abhängig von der Lokalisation am Körper).

Die Klassifizierung nach CLARK ist gegenüber der Eindringtiefe in mm inzwischen deutlich weniger relevant als früher, da sie nach GARBE (2006c) weniger aussagekräftig als die Tumordicke nach Breslow ist. Mehrere Autoren (MCDERMOTT 1998, SCOLYER 2003, MURALI 2009) wiesen eine nur mäßige Interobserver-

Korrelation bezüglich des Clark-Levels und damit eine im Vergleich zur Eindringtiefe nach Breslow schlechtere objektive Reproduzierbarkeit nach.

2.5.3) Weitere prognostische Kriterien

Als negativer prognostischer Faktor hat sich eine Ulzeration des Primärtumors etabliert. Dies wurde 1953 erstmals sowohl von TOMPKINS als auch unabhängig hiervon von ALLEN dargestellt und seither vielfach bestätigt (BALCH 2001a, CALLENDER 2011). Ulzeration ist gemäß AJCC-Klassifikation von 2009 (BALCH 2009) definiert als „locally advanced lesion“, d.h. eine Unterbrechung in der Epidermis. Nach SPATZ 2003 und GARBE 2006c ist diese AJCC-Definition jedoch problematisch, da die Kontinuität der Epidermis auch iatrogen und durch Kratzartefakte unterbrochen werden kann, welche jedoch prognostisch nicht von Relevanz sind (HELM 2004). Meist geht die lokale Ulzeration mit einer Entzündungsreaktion sowie einer krustigen Auflagerung einher. Die Ulzeration korreliert mit der Tumordicke, der Metastasierung (BALCH 2001a) und dem Fortschreiten in ein höheres Tumorstadium (REINTGEN 1992).

Ein weiterer prognostischer Faktor ist die Mitose-Rate im Primärtumor (BALCH 2011), die ebenfalls Einzug in die aktuelle AJCC-Klassifikation gefunden hat. Sie beschreibt die Anzahl der Mitosen (Zellkernteilungen) pro mm². Das Fehlen von Mitosen ist als prognostisch günstig im Vergleich zum Vorhandensein derselben anzusehen. Weiterführende Gruppierungen in unterschiedlich hohe Mitoseraten ergaben keine Unterschiede (AZZOLA 2003).

Ein relevanter prognostischer Faktor ist die Höhe des Laktatdehydrogenase-Werts im

Serum (VEREECKEN 2012).

Als etabliert gilt der Tumormarker S100 β , der von GUO 1995 erstmals beschrieben wurde und dessen erhöhte Werte mit einer ungünstigeren Prognose einhergehen (HAUSCHILD 1999a, EGBERTS 2008). Dennoch ist auch dieser wegen seiner geringen Spezifität (bei hoher Sensitivität) nicht unumstritten, da auch viele benigne Zellen (Langerhans-Zellen, dendritische Zellen des Parakortex, Schwann-Zellen kleiner Nerven und Naevuszellen) sowie Tumorgewebe anderer histogenetischer Arten (z.B. Meningeome, Gliome, chondroide Tumoren) von ihm markiert werden. Außerdem konnte OTTO 2000 auch erhöhte S100-Spiegel nach sportlicher Aktivität nachweisen. Als Screeningmarker ist S100 für höhere Melanomstadien geeignet (HAUSCHILD 1999b, SCHMITZ 2000).

Des Weiteren stellen die Lokalisation des Primärtumors (GARBE 1995), der Grad der Metastasierung sowie das Alter und Geschlecht des Patienten (BALCH 2001a) ebenfalls Prognoseparameter dar.

2.5.4) Prognose

Unter der Prognose versteht man die Vorhersage des erwarteten Krankheitsverlaufs, die sich aus empirischen Erkenntnissen ergibt. Sie ist somit keine deterministische Festlegung, sondern eine Aussage über die Wahrscheinlichkeit anhand statistischer Daten. Insbesondere bei bösartigen Erkrankungen wie dem malignen Melanom ist sie sowohl für die betroffenen Patienten als auch für die behandelnden Ärzte von erheblicher Relevanz. Einerseits stellen sich die Betroffenen Fragen über die verbleibende Lebenszeit sowie mögliche Schmerzen und Symptome, andererseits orientieren sich auch die medizinischen Maßnahmen daran.

Neben der Lokalisation eines Tumors sind grundsätzlich für die Prognose das

Grading (Differenzierung) und das Staging (Tumorstadium) von entscheidender Bedeutung. Hierdurch erfolgt eine Einteilung in prognostisch homogene Gruppen. Zusätzlich bestimmen die zur Verfügung stehenden Therapiemöglichkeiten die Prognose.

Während eine gute Prognose für eine Komplettremission und damit Heilungsmöglichkeit spricht, bedeutet eine schlechte bis infauste Prognose ein Fortschreiten des Primärtumors und/oder seiner Metastasen. Dies führt unweigerlich zum Tod, dessen Ursache meist ein Multiorganversagen durch Metastasen ist, oft in Folge einer Tumorkachexie (FUKUDA 2009). Bei einer schlechten Prognose steht somit nicht die Heilung (kurative Therapie), sondern stehen die Symptomkontrolle und Erhaltung der Lebensqualität (palliative Therapie) im Vordergrund.

Nach zahlreichen übereinstimmenden Studien wünschen sich Krebspatienten mit überwältigender Mehrheit Aufklärung über ihre Diagnose (NOONE 2000) und Prognose (PIMENTEL 1999, LOBB 2001, HARI 2007). In den letzten Jahrzehnten erfolgte zwar ein Paradigmenwechsel innerhalb der Ärzteschaft hin zu einer vermehrten Aufklärung über die Diagnose (NOVACK 1979, THOMSEN 1993), die Aufklärungsbereitschaft bezüglich der Prognose ist jedoch erheblich geringer und weicht von den Patientenwünschen enorm ab (DALLA VORGIA 1992, ELGER 2002), wobei erhebliche regionale Unterschiede vorliegen (HOSAKA 1999, VOORHEES 2009, CSIKOS 2010). Verantwortlich für die ärztliche Hemmung, prognostische Aussagen zu treffen, sind insbesondere die Unsicherheit bzgl. der Genauigkeit (IWASHYNA 2001), die Einstellung, den Patienten vor schlechten Nachrichten bewahren und schützen zu wollen (FALLOWFIELD 2002), die Befürchtung eines Kontrollverlustes (FRIEDRICHSEN 2006), die Bedenken, psychische Probleme damit zu verursachen (SHAHIDI 2010) und die eigene kommunikative und emotionale Unsicherheit (HORTON 2011).

2.6) Histopathologie

Den Goldstandard in der Melanomdiagnostik stellt die histopathologische Beurteilung dar. Zunächst ist primär zwischen „in situ“ und „invasiv“ zu unterscheiden, anschließend sind Breslow-Tumordicke, Clark-Invasionslevel und Ulzeration zu klassifizieren.

Das Melanoma in situ (Abbildung 15) zeichnet sich typischerweise durch die unscharfe Begrenzung der lateralen melanozytären Komponente, eine Vermehrung von atypischen Melanozyten (pleomorphe Kerne, breites Zytoplasma) in meist allen Schichten („pagetoides Muster“ / “scatter of melanocytes“ / „buck-shot-pattern“ / “schrotschussartiges Bild“) der Epidermis (fokal oft vermehrt, einzeln im Gegensatz zu Nestern), ungleichmäßige Abstände zwischen intraepidermalen Melanozyten und Melanozytennestern sowie durch eine im Stratum papillare vorliegende aktinische Keratose aus.

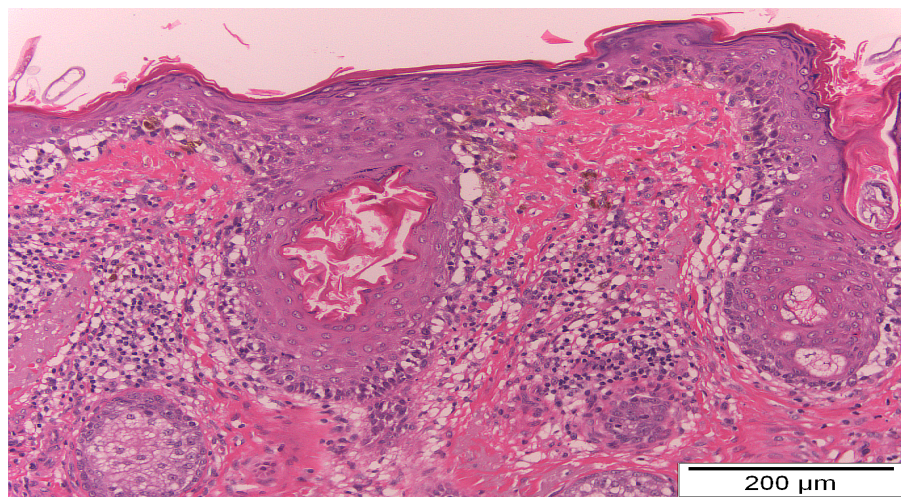


Abbildung 15: Melanoma in situ (LMM). Eigene Darstellung, Färbung: HE, Vergrößerung: dem Maßbalken im Bild entsprechend.

Das invasive Melanom (Abbildung 16) hat sich bereits über die Dermis hinaus ausgebreitet und weist neben den Kriterien des In-situ-Melanoms zusätzlich die Möglichkeit zu metastasieren, eine asymmetrische Tumorarchitektur mit unscharfer Begrenzung, fehlende Melanozytenreifung (größere Zellelemente mit Atopien, vermehrt in Einzelformationen im Vergleich zu Nestern), konfluierende in Größe und Form variierende, oft unscharf begrenzte Nester von Melanozyten („Sheets“) mit unterschiedlichen Abständen zueinander, Nachweis von Mitosen, das Vorliegen verschiedener Zellarten (meist mit atypischen Kernen) sowie „pagetoide Durchwanderung“ der Melanozyten durch alle Schichten (Melanozyten in Nestern oder einzeln durch die gesamte Epidermis) auf.

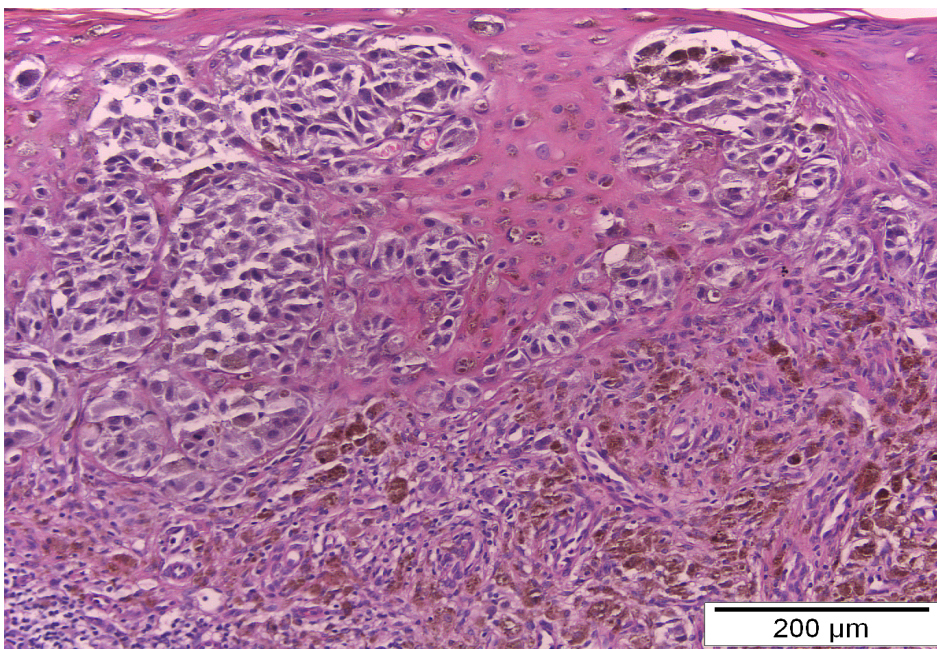


Abbildung 16: Superfiziell spreitendes Melanom. Eigene Darstellung, Färbung: HE, Vergrößerung: Vergrößerung: dem Maßbalken im Bild entsprechend.

2.7) Immunhistochemie

Bereits Mitte der fünfziger Jahre des 20. Jahrhunderts gelang mittels Antigen-Antikörper-Reaktion der Nachweis von Mikroorganismen in Gewebeschnitten durch die „direkte Immunfluoreszenz“, wobei mit Fluorochrom konjugierte Antikörper an das nachzuweisende Antigen binden und sich das Antigen so im Fluoreszenzmikroskop nachweisen lässt.

Grundsätzlich beruht die Methode der Immunhistochemie auf der Affinität von Antikörpern zu einem bestimmten Epitop. Dieses, auch als antigene Determinante bezeichnet, beschreibt eine bestimmte Gewebeeigenschaft wie beispielsweise eine Aminosäuregruppe oder eine Oligosaccharidkette (LANG 2006).

Wird der passende Antikörper (gewonnen z.B. aus dem Serum von Versuchstieren) aufgebracht, kommt es zu einer spezifischen und starken Bindung zwischen diesem und dem Epitop. Diese wird meist indirekt nachgewiesen und erfolgt durch eine neuerliche immunologisch-chemische Reaktion. Hierzu werden gegen den primären Antikörper gerichtete sekundäre Antikörper, die mit einem Marker versehen sind, verwendet. Dadurch wird die Bindung optisch nachweisbar.

Zur Sicherheit sind außerdem jeweils Kontrollfärbungen (Positivkontrollen = Kontrollschnitt, der das nachzuweisende Antigen sicher enthält, sowie Negativkontrollen) anzufertigen.

Beim malignen Melanom nehmen immunhistochemische Marker eine wichtige Rolle ein, da mittels konventioneller Mikroskopie gelegentlich keine eindeutige Zelltypdifferenzierung möglich ist.

Ein wichtiger melanozytenspezifische Marker ist Melan A / MART1, der allerdings beim desmoplastischen Melanom negativ sein kann (BUSAM 1998). Er wurde 1994 von zwei voneinander unabhängigen Forschungsgruppen beschrieben und von KAWAKAMI als „Melanoma Antigen Recognized by T-Cells“ (MART), von COULIE als „Melanocyte Antigen“ (Melan-A) bezeichnet.

Häufig wird auch HMB-45 (Human Melanoma Black, Zellklon 45) benutzt. Dieser monoklonale Antikörper ist relativ spezifisch und sensitiv und erlaubt insbesondere eine Unterscheidung zwischen Naevus und Melanom. An gleicher Stelle (melanosomales Protein gp100) greift auch MAA (Melanoma Associated Antigen) an.

BOGDAHN beschrieb 1989 erstmals ein Protein namens MIA (melanoma inhibitory activity), welches Melanomzellen in den Extrazellularraum sezerniert (BLESCH 1994). BOSSERHOFF konnte 1997/1998 zeigen, dass MIA die Metastasierung von Melanomen fördert und sich sehr gut als Screeningmarker eignet.

Regelmäßig eingesetzt wird ein Antikörper gegen das Protein S-100 („Soluble 100%“), der zwar sehr sensitiv, hingegen weniger spezifisch ist (s.o.).

Neu verwendet wird mitunter auch (STRUB 2011) der Marker MITF (Microphthalmia Transcription Factor), während sich weitere wie Tyrosinase noch in der experimentellen Erprobung (UGUREL 2006) befinden.

Da keiner der Antikörper mit absoluter Sicherheit zwischen maligne und benigne zu unterscheiden vermag, werden mitunter auch Proliferationsmarker wie Ki-67 („Kiel Zellklon 67“) / MIB1 („Made in Borstel“) und PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen) verwendet.

2.8) Maspin

2.8.1) Allgemeines

Maspin (Mammary Serin Protease Inhibitor) ist ein Protein von 42 kDa, das aus 375 Aminosäuren besteht und vom Gen SERPIN B5 (Serin Protease Inhibitor Clade B Member 5) kodiert wird. Lokalisiert ist dieses Gen auf Chromosom 18q21.3-q23 in unmittelbarer Nähe zu weiteren Tumorsuppressorgenen (z.B. PAI-2, DCC, DPC4) und Onkogenen (BCL-2, SCCA-1, SCCA-2). Es gehört zur Familie der Serpine, die zu den Serin-Protease-Inhibitoren zählen. Serin-Proteasen selbst spielen eine entscheidende Rolle bei der Tumordinvasion und Metastasierung.

Im gesunden Gewebe lässt sich Maspin in epithelialen Zellen von Brust, Prostata, Thymus, Haut, Plazenta, Hoden, Atemwegen und Mund nachweisen (PEMBERTON 1997, FUTSCHER 2002).

Im Jahre 1994 konnte ZOU beschreiben, dass Maspin von gesundem Mammaepithel exprimiert wird, nicht jedoch von den meisten Zelllinien von Mammakarzinomen. Die Maspinexpression wird beim Progress vom benignen zum invasiven und metastasierenden Tumortypus herunterreguliert. Aufgrund dessen wurde vermutet, dass es sich bei Maspin um ein Tumorsuppressorgen handelt.

Eine Inhibition der Invasion und Migration von Tumorzellen durch Maspin zeigte SHENG 1996 auch beim Prostatakarzinom.

Diese Wirkung konnte NGAMKITIDECHAKUL 2003 auf eine exponierte reaktive Seitenkette (RCL, Abbildung 17) zurückführen. Die RCL von Maspin scheint nötig für dessen Aktivität als Inhibitor der Zellmigration zu sein (BASS 2002, PEMBERTON 1995) sowie die Zelladhäsion zwischen Basalmembran und extrazellulärer Matrix zu induzieren (SCHAEFER 2003).

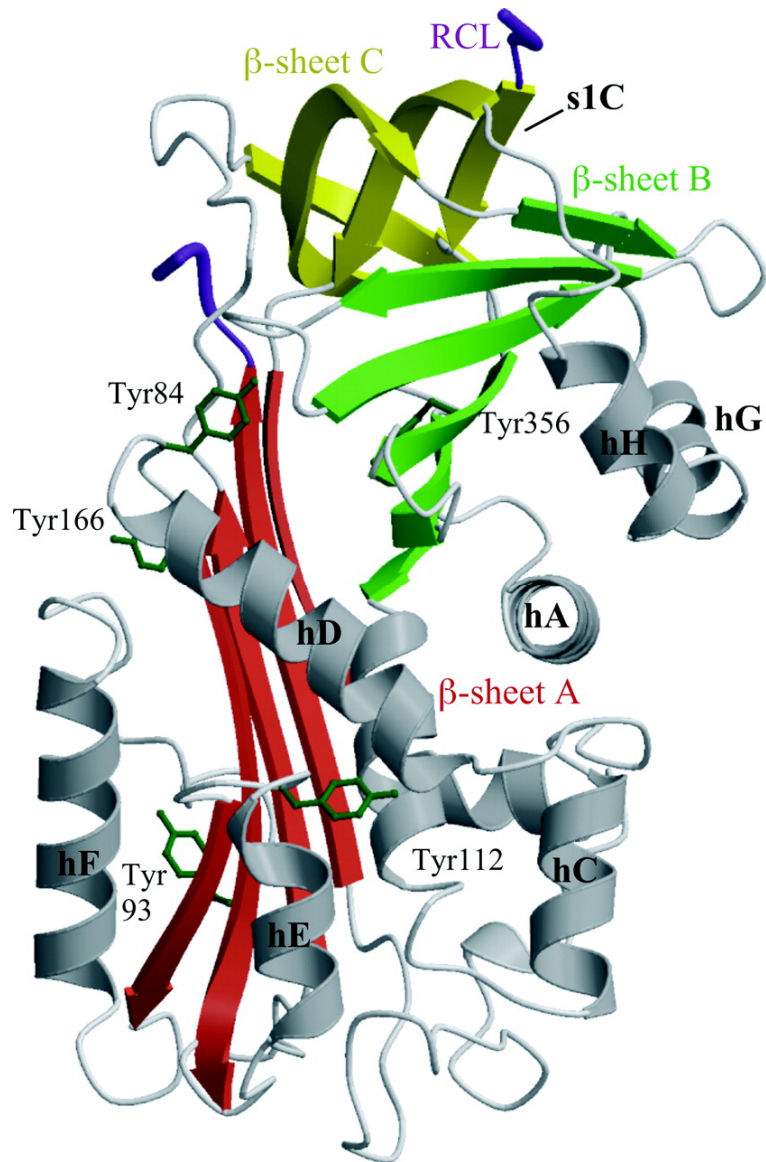


Abbildung 17: Kristallstruktur von Maspin mit reaktiver Seitenkette (lila) aus: LAW 2005

Maspin hemmt die Angiogenese (ZHANG 2000, CHER 2003, MARIONI 2005), was ebenfalls für die Rolle von Maspin als Tumorsuppressorgen spricht.

FUTSCHER zeigte 2004, dass die Maspinexpression zelltypspezifisch durch epigenetische Veränderungen reguliert wird. TELLEZ stellte 2009 fest, dass die Grundlage dessen die unterschiedlich starke Methylierung der CpG-Inseln (Cytosin-phosphatidyl-Guanin) in der Promoter-Region (d.h. in dem DNA-Abschnitt, der die Genexpression bestimmt) ist: Maspin-positive Zellen (z.B. benignes Prostata-/Mamma-Epithel, Keratinozyten) zeigen dort keine Methylierung, während Maspin-negative Zellen (z.B. Fibroblasten, Lymphozyten, Myozyten, Hepatozyten, Knochenmarkszellen) umfassende Methylierungen aufwiesen, was zu einer Hemmung der Transkription führt.

Bei der Untersuchung von Melanomzelllinien konnte WADA 2004 eine inverse Korrelation zwischen Methylierungsstatus des Promoters und der Maspinexpression sowohl auf RNA- als auch auf Proteinebene nachweisen.

ENDSLEY (2011) konnte entschlüsseln, dass Maspin auf der Zelloberfläche einen Komplex mit uPA (Urokinase-Typ Plasminogen Aktivator) / uPAR (Urokinase-Typ Plasminogen Aktivator Rezeptor) und β 1-Integrin bildet und dass dieser Komplex für die Förderung der Zelladhäsion und für die Inhibition der Migration eine entscheidende Rolle spielt. Offenbar kann Maspin durch seine Integration in diesen Komplex eine Veränderung der Konformation oder der Mobilität des uPAR bewirken, die zu einer abweichenden Bindung oder Aktivierung von β 1-Integrin führt. Die dadurch bewirkte verminderte Zellmigration bei gesteigerter Adhäsion würde für die Rolle von Maspin als Tumorsuppressorgen sprechen.

Auch der Thrombinrezeptor PAR-1 (Protease-aktivierter Rezeptor 1) scheint eine entscheidende Rolle zu spielen: Dieser war bei Melanomen und anderen malignen Tumoren überexprimiert (VILLARES 2011a, BRAEUER 2011). Eine PAR-1-Unterdrückung führte (VILLARES 2011b) zu geringerer Tumordicke, geringerer Metastasierung und zu einem 40fachen Anstieg der Maspinexpression.

Zusammenfassend konnte KHALKHALI-ELLIS 2006 statuieren, dass diese tumorsuppressiven Effekte von Maspin durch eine Beeinflussung der Zellmotilität, Invasion, Metastasierung, Hemmung der Angiogenese und Interaktion mit dem Tumorsuppressorgen p53 erfolgten.

Damit wurde eine starke Expression von Maspin in Tumoren mit einer guten Prognose in Verbindung gebracht (Anhang 6.3.1), sei es für Brust (z.B. MAASS 2001 a/b, BELTRAN 2011), Harnblase (BEECKEN 2006), Kehlkopf (MARIONI 2006), Kolon (ZHENG 2007), Lunge (z.B. NAKAGAWA 2006, TAKANAMI 2008), Magen (z.B. WANG 2004, YANG 2011), Niere (BLANDAMURA 2006), Ovar (z.B. SECORD 2006), Prostata (CHER 2003, LIU 2012), Speicheldrüse (NAVARRO 2004), Schilddrüse (BOLTZE 2003a) oder Zunge (YASAMATSU 2001).

Konträr hierzu werden in zahlreichen Berichten Korrelationen zwischen sehr hoher Maspinexpression und besonders aggressivem Tumorwachstum, schlechter Differenzierung und damit auch Prognose beschrieben (Anhang 6.3.2). Diese Eigenschaften widersprechen der Funktion von Maspin als Tumorsuppressorgen, sprechen vielmehr für dessen Rolle als Onkogen und konnten beispielsweise für bestimmte Karzinome der Brust (z.B. LEE 2006), des Endometriums (LI 2007), der Gallenblase (MAESAWA 2006, KIM 2010), der Harnblase (SUGIMOTO 2004,

JUENGEL 2010), des Kolons (z.B. UMEKITA 2006), der Lunge (z.B. HIRAI 2005), des Magens (z.B. YU 2007), des Ovars (z.B. ABD EL-WAHED 2005, LIN 2011), des Pankreas (z.B. CAO 2007), der Speicheldrüse (NAKASHIMA 2006) und der Schilddrüse (OGASAWARA 2004) gezeigt werden.

2.8.2) Die Expression von Maspin in der Haut und bei Hautveränderungen

Für Neoplasien der Haut existieren bislang fünf Studien über die Expression von Maspin, die jedoch nicht zu übereinstimmenden Ergebnissen gelangten:

2002 untersuchte REIS-FILHO die Expression von Maspin in Plattenepithelkarzinomen, Basalzellkarzinomen und in normaler Epidermis und statuierte, dass gemäß seiner Ergebnisse die vermutete Rolle von Maspin als Tumorsuppressorgen nicht unterstützt werden könne, da keine Korrelation der Maspinexpression mit Zellproliferation, Wachstumsmuster, Grad der Desmoplasie im Stroma sowie anderen pathologischen und prognostisch relevanten Faktoren auftrat.

2004 vermutete WADA nach widersprüchlichen Expressionsergebnissen von Maspin bei Untersuchungen an Melanomen, dass die Maspinexpression in normalen Hautmelanozyten und melanozytären Naevi in einer zellartspezifischen Art und Weise unterdrückt werde, wohingegen die Expression in einer Teilmenge von epigenetisch veränderten Melanozyten unterschiedlich sei und forderte weitergehende Untersuchungen.

DENK stellte schließlich 2007 die Behauptung auf, dass Maspin ein Tumorsuppressor des malignen Melanoms sei, nachdem sie in ihrer *in-vitro*-Studie eruiert hatte, dass bei Melanom-Zellen im Gegensatz zu normalen epidermalen Melanozyten ein Verlust der Maspin-Expression vorliegt. Außerdem wurden Klone von Melanomzellen mit einem Expressionsvektor für Maspin transfiziert: bei stabiler Transfizierung konnte - wie in vorübergehend transfizierten Zelllinien auch - eine verminderte Invasivität nachgewiesen werden, jedoch kein Unterschied im Hinblick auf Proliferation und Migration. Des Weiteren konnte durch exogen zugefügtes Maspin ebenfalls eine Verhinderung der Invasion erreicht werden, was für eine Wirkung direkt auf der Zelloberfläche spricht.

Bei dieser Studie fanden vorzugsweise *in-vitro*-Versuche unter Verwendung der Zelllinien Mel Im, Mel Ei, Mel Wei, Mel Ju, Mel Juso, Mel Ho, SK Mel3, SK Mel28, HTZ19d und HMB2 statt.

VERECKEN konnte 2006 beim Melanom eine geringergradige Maspinexpression bei mittleren und hohen Tumordicken im Vergleich zu Melanomen niedriger Tumordicke nachweisen und folgerte daraus, dass Maspin bzw. dessen Expressionsverlust bei steigender Tumordicke eine Rolle bei der Progression, der Invasion und der Metastasierung spiele.

Zuletzt vermutete CHUA 2009 eine Funktion von Maspin als Tumorsuppressorgen bei malignen Melanomen. In seiner Studie korrelierte er das immunhistochemische Expressionsmuster von Maspin in 77 Melanomen mit Angiogenese, Tumordicke und Outcome. In Naevi zeigte sich eine starke, in normaler Haut keine Maspin-Expression, im Initialstadium maligner Melanome eine stärkere Färbung im Vergleich zum späteren invasiven Wachstum. Bei den Melanomen konnte eine statistisch

relevante inverse Korrelation zwischen Maspinexpression und Mikrogefäßdichte sowie einer Tumordicke von mehr als 0,76 mm aufgezeigt werden, jedoch weder eine positive noch negative Korrelation zu Prognose und Outcome.

REIS-FILHO (2002) untersuchte außerdem das Färbeverhalten von Maspin in normaler Haut. Dabei konnte er feststellen, dass es einen sukzessiven Anstieg der zytoplasmatischen und membranösen Expression von suprabasal zum Stratum spinosum sowie granulosum gab, während Basalzellen grundsätzlich negativ blieben.

In Haarfollikeln war Maspin durchgehend im Zytoplasma sowie der Membran reifer Zellen der Haarmatrix und der Keimschicht exprimiert, ebenso in der Henle- und Huxley-Schicht wie auch in der Haarkutikula, fokal außerdem in einigen Zellen der äußeren Haarscheide. Negativ verliefen die Färbungen in der perifollikulären Bindegewebs-Hülle, während reife Talgdrüsen eine intensive zytoplasmatische sowie gelegentlich nukleäre Maspin-Reaktivität zeigten, wohingegen diese bei Schweißdrüsen auffällig unterschiedlich zu Tage trat (z.T. Immunreaktivität in allen Zellen nukleär und zytoplasmatisch, z.T. ausschließlich nukleär). Komplette negativ blieben dermal mesenchymale Zellen, endotheliale Zellen, Perizyten, glatte Muskelzellen, Nervenzellen und Adipozyten.

2.9) Ziele und Fragestellung der Arbeit

Das maligne Melanom stellt eine der bedeutendsten Tumorentitäten dar, dessen Relevanz sich kontinuierlich sowohl in Mitteleuropa als auch weltweit steigert. Sowohl aus medizinischer als auch aus gesundheitsökonomischer Sicht wäre es wünschenswert, wenn sich eine sichere prognostische Aussage über eine zu erwartende Metastasierung sowie die Gesamtüberlebensrate treffen ließe. Die Wertigkeit der Maspinexpression im Primärtumor soll deshalb untersucht und folgende Fragen beantwortet werden:

1. Existiert ein unterschiedliches Expressionsmuster für Maspin je nach Geschlecht und Melanom-Subtyp?
2. Wie verhält sich das Expressionsmuster in Melanomen mit verschiedenen Tumordicken und -stadien gemäß der Tumordicke nach Breslow, dem Clark-Level und dem TNM-Stadium?
3. Lassen sich aus dem (semiquantitativen) Maspin-Färberesultat des Primärtumors Aussagen im Hinblick auf das progressionsfreie Überleben (PFS) und das Gesamtüberleben (OAS) ziehen?
4. Wie verhalten sich die Ergebnisse im Vergleich zu den in der Diagnostik verwendeten Tumormarkern S100 und der Invasionstiefe nach Breslow?
5. Fungiert Maspin beim malignen Melanom als Tumorsuppressorgen oder als Onkogen?

3) Material und Methodik

3.1) Auswahlkriterien

Für die Arbeit wurden Mitte 2008 Patienten mit histologisch gesichertem malignen Melanom (Erstdiagnose 2001 bis 2008) ausgewählt, die sich seit 2001 in der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie des Universitätsklinikums des Saarlandes in Homburg/Saar in Behandlung befanden und sich entweder dort oder bei niedergelassenen Ärzten in der onkologischen Nachsorge befanden. Bei der Auswahl wurden ausschließlich Primärtumore berücksichtigt, wobei alle vier histologischen Typen des malignen Melanoms eingeschlossen wurden. Außerdem sollte ein möglichst langes Follow-Up mit regelmäßigen Nachkontrollen gegeben sein. Die letzte Nachuntersuchung und Datenerfassung erfolgte am 30.06.2011. Über diese Kriterien konnten 47 Patienten in die Studie eingeschlossen werden.

3.2) Patienten

21 Männer und 26 Frauen (Abbildung 18) der Jahrgänge zwischen 1923 und 1988 wurden in die Studie eingeschlossen. Zum Zeitpunkt der Auswertung betraf der gemittelte Geburtsjahrgang das Jahr 1946. Bei den Patienten lagen histologisch gesicherte maligne Melanome in den TNM-Stadien pT1a bis pT4b vor. Die Mehrzahl davon waren superfiziell spreitende Melanome. Neben den vier histologischen Haupttypen lag auch ein amelanotisches Melanom vor. Die Tumoreindringtiefen lagen zwischen in situ und Clark-Level V. Die Tumordicken nach Breslow betrugen zwischen 0,2 mm und 12 mm.

Geschlecht	männlich	21 (44.7%)
	weiblich	26 (55.3%)
TNM-Stadien	<i>pT1a</i>	16 (34.04%)
	<i>pT1b</i>	0 (0%)
	<i>pT2a</i>	8 (17.02%)
	<i>pT2b</i>	2 (4.25%)
	<i>pT3a</i>	6 (12.76%)
	<i>pT3b</i>	3 (6.38%)
	<i>pT4a</i>	2 (4.25%)
	<i>pT4b</i>	7 (14.89%)
	<i>n.a.</i>	3 (6.38%)
Subtyp	<i>SSM</i>	23 (48.9%)
	<i>NMM</i>	16 (34.0%)
	<i>ALM</i>	3 (6.4%)
	<i>LMM</i>	4 (8.5%)
	<i>AMM</i>	1 (2.1%)
Tumordicke (mm)	$\leq 1.00 \text{ mm}$	18 (38.3%)
	$>1.00 - 2.00 \text{ mm}$	10 (21.3%)
	$>2.00 - 4.0 \text{ mm}$	12 (25.5%)
	$>4.00 \text{ mm}$	7 (14.9%)
Clark-Level	<i>in situ</i>	1 (2.13%)
	<i>I</i>	0 (0%)
	<i>II</i>	16 (34.04%)
	<i>III</i>	17 (36.17%)
	<i>IV</i>	8 (17.02%)
	<i>V</i>	4 (8.51%)
	<i>n.a.</i>	1 (2.13%)

Abbildung 18: Patientendaten (eigene Darstellung)

3.3) Schnitte

Zunächst wurden zu den zuvor ausgewählten Patienten die in Formalin fixierten und in Paraffin eingebetteten Melanombiopsate/-exzidate herausgesucht und zur besseren Schneidbarkeit mit einer Kühlplatte bis unter 0° Celsius abgekühlt. Anschließend wurden mit dem Mikrotom BIOCUT 2030 der Firma Reichert-Jung aus dem Spenderblock jeweils ca. 7 µm dicke Schnitte angefertigt, die in warmem Wasser gestreckt und auf Objektträger gebettet wurden.

Durch Inkubierung im Brutschrank bei 37° Celsius wurden die Exzidatschnitte auf den jeweiligen Objektträgern fixiert.

3.4) Entparaffinierung

Über eine absteigende Alkoholreihe (100%, 100%, 96%, 70%) mit Xylol und mit Isopropanol (= Isopropylalkohol) wurde das Bettungsmaterial Paraffin von den Schnitten gelöst. Im Anschluss erfolgte eine dreiminütige Inkubation in destilliertem Wasser, durch das noch verbliebene Reste des Alkohols vom Objektträger entfernt wurden.

3.5) Färbungen

Während die Hämatoxylin-Eosin-Färbungen manuell angefertigt wurden, erfolgten die Antikörper-Färbungen vollautomatisch mit dem Autostainer® der Firma DAKO®. Dieser erlaubt eine Automatisierung manueller Färbemethoden für bis zu 48 Mikroskop-Objektträger. An Reagenzien waren hierzu Pufferlösung, 2AK, Alkaline-Phosphatase, RED-Chromogen (C, D, E, Verdünnungsmedium F), Hämatoxylin sowie die jeweiligen Antikörper notwendig.

3.5.1) Hämalaun-Eosin (HE)

Zur eindeutigen Identifizierung tumorhaltigen Probematerials erfolgte eine konventionelle HE-Färbung.

Zunächst wurde hierzu mit Hämalaun Mayer drei Minuten lang gefärbt. Dies ist eine Kernfärbung, bei der die charakteristische blaue Farbe zu Tage tritt. Die Schnitte wurden anschließend gebläut, d.h. unter Spülen mit Leitungswasser fixiert.

Anschließend erfolgte für eine Minute die Färbung mit Eosin-Lösung, wodurch Zytoplasma, Bindegewebe und Kollagenfasern rot gefärbt werden.

Hierbei entsteht in den Kernen ein rot-violettes Mischbild durch Eosin und Hämalaun. Schließlich wurde mit Aqua dest. gespült.

3.5.2) Maspin

Die vorbereiteten Schnitte wurden zunächst für 10 Minuten im Dampfbad erwärmt und anschließend mit Waschpuffer ausgewaschen. Dann erfolgte eine vollautomatische Färbung mit dem DAKO Autostainer unter Verwendung des monoklonalen Maus-Antikörpers (Verdünnung 1:25 nach vorheriger Testung und Durchführung einer Verdünnungsreihe) gegen Maspin der Firma Acris Antibodies, Klon EAW 24, Host IgG2a.

3.6) Nachbereitung

Die gefärbten Objektträger wurden in Wasser gewaschen und mit dem Schnelleindeckmittel Entellan® eingedeckt, mit einem Deckplättchen belegt und anschließend unter dem Mikroskop analysiert.

Mit dem Programm OpenOffice Calc von Sun Microsystems wurde anhand der vorliegenden Patientenakten, schriftlichen und telefonischen Auskünften niedergelassener Ärzte und einzelnen Privatauskünften betroffener Patienten eine Tabelle erstellt, in der zu jedem Patienten das Alter zum Zeitpunkt des Primarius, das Geschlecht, der Tumortyp, die Tumordicke, das Clark-Level, der S100-Wert, ggf. das Auftreten von Metastasen und ggf. der Todeszeitpunkt sowie das Maspin-Färbeergebnis zusammengestellt wurden.

Zur Analyse der Färbeintensität legten wir eine semiquantitative Auswertung zu Grunde mit den Werten 0 (keine Färbung) bis 3 (sehr kräftige Färbung):

0	Keine Färbung
1	Schwache Färbung
2	Mittelstarke Färbung
3	Starke Färbung

Abbildung 19: Semiquantitative Auswertung der Färbeintensität (eigene Darstellung)

Die Auswertung, jeweils getrennt für Epidermis, Junktionszone, invasiv-dermale Zone (sofern nicht in situ) sowie Adnexe wurde unabhängig voneinander von zwei verschiedenen Befundern durchgeführt und die Werte anschließend gemittelt. Dabei konnte eine sehr hohe Interobserver-Korrelation erreicht werden.

Zur besseren Differenzierbarkeit erfolgte hierbei keine Rundung, sodass die Skala auf Schritte von jeweils 0,5 erweitert wurde und somit letztlich 7 Kategorien anfielen.

3.7) Geräte und Chemikalien

Paraffin	Kliniplast Gewebe-Eindeckmedium, KLINIKA Medical GmbH, Usingen, BRD
Kühlplatte	Tissue Tek Cryo Console, Miles Scientific, Rockford, USA
Mikrotom	Rotationsmikrotom BIOCUT 2030, Reichert-Jung, Nussloch, BRD
Wasserbad	Typ WB24, Medax Nagel GmbH, Kiel, BRD
Objektträger	Menzel-Gläser Objektträger, Menzel GmbH & Co KG, Braunschweig, BRD
Inkubator	Tissue Drying One TDO 51.0, Medite Medizintechnik, Burgdorf, BRD
Xylol	Xylol Pharm. Helv. VI, Merck KGaA, Darmstadt, BRD
Isopropanol	Isopropylalkohol GMP, August Hedinger GmbH & Co KG, Stuttgart, BRD
Aqua dest	Christ Ministil P5, aqua quick Wassertechnik & Regenerierservice GmbH, Schwalbach, BRD
Dampfbad	DG 2844, CTC Clatronic International GmbH, Kempen, BRD
Waschpuffer	Dako Wash Buffer, DAKO, Glostrup, DK
Färbeautomat	Dako Autostainer Plus, DAKO, Glostrup, DK
2AK K5005	Dako REAL Link, Biotinylated Secondary Antibodies, DAKO, Glostrup, DK

AP K5005	Dako REAL Streptavidin Alkaline Phosphatase, DAKO, Glostrup, DK
RED K5005	Dako REAL Chromogen 1/2/3 (x28) & AP Substrate Buffer, DAKO, Glostrup, DK
Hämatoxylin	Dako Real Hematoxylin, DAKO, Glostrup, DK
Maspin-AK	Anti-Maspin Acris Antibodies, Herford, BRD
Entellan	Microscopy Entellan Neu Schnelleindeckmittel für die Mikroskopie, Merck KGaA, Darmstadt, BRD
Deckplättchen	Deckgläser für die Mikroskopie, R. Langenbrinck Labor- u. Medizintechnik, Emmendingen, BRD
Mikroskop	Olympus Europa GmbH, Hamburg, BRD

4) Ergebnisse

4.1) Maspin-Expression in unterschiedlichen Hautschichten

Maspin wurde in 46 von 47 Melanomschnitten exprimiert, jedoch je nach Präparat und Lokalisierung innerhalb der Hautschichten in unterschiedlicher Häufigkeit und Intensität.

Im **epidermalen** Bereich zeigte sich bei 46 der 47 Schnitte (97,9%) eine Färbung und damit eine Maspinexpression. Die Intensität war meist kräftig mit einem in etwa linearen Anstieg von keiner bis sehr starker Expression (Abbildung 20).

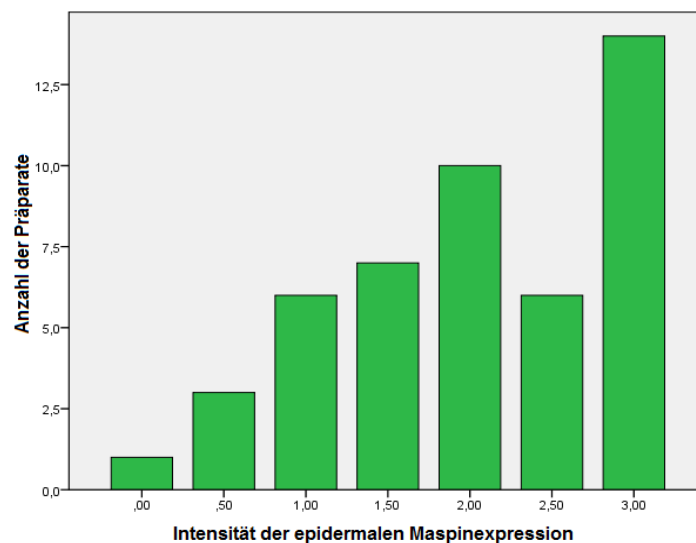


Abbildung 20: Intensität der Maspinexpression epidermal (x-Achse) bezogen auf die Anzahl der Präparate (y-Achse). Eigene Darstellung.

Nur bei wenigen Präparaten ließ sich epidermal keine (1 Präparat, 2,1%) oder sehr geringe (3 Präparate (6,4%) mit Intensität 0,5, 6 Präparate (12,8%) mit Intensität 1) Maspinexpression feststellen. In einer erheblich größeren und graduell ansteigenden Anzahl traten mittelstarke Expressionen auf. Die mit Abstand meisten Schnitte (14 Präparate, 29,8%) wiesen eine maximale Expression von Maspin auf (Abbildung 21), sodass sich insgesamt eine linear steigende Korrelation zwischen Fallzahlen und Expressionsstärke ergab.

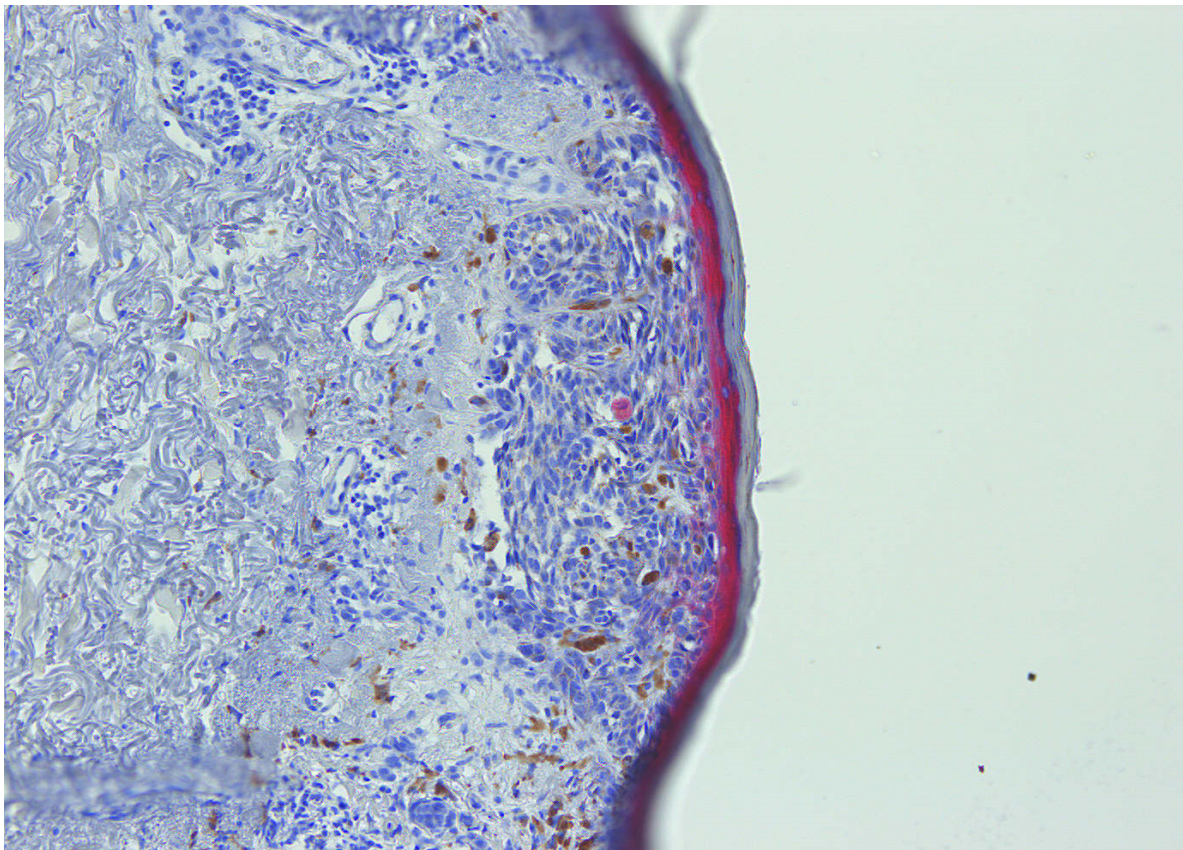


Abbildung 21: Sehr starke Expression von Maspin in der Epidermis am Beispiel eines LMM, Clark Level III, Tumordicke nach Breslow 0,44mm, pT1a. Eigene Darstellung, Färbung: HE und Maspin-Antikörper, Vergrößerung: 20x.

Im Gegensatz hierzu war die Expression von Maspin sowohl im **junktionalen** (Abbildung 22) als auch im **invasiven** Part (Abbildung 23) der Melanome im Durchschnitt deutlich schwächer bzw. oft gar nicht vorhanden. Bei diesen Hautschichten war bei über der Hälfte der begutachteten Schnitte keinerlei Expression nachweisbar (junktional bei 27 Präparaten (57,4%), invasiv bei 28 Präparaten (60%)). In einem Teil der Präparate zeigte sich hier zumindest eine sehr schwache Anfärbung (Abbildung 24). Mittelstarke bis starke/maximale Expression war in beiden Hautschichten nur in Einzelfällen nachweisbar (je 1x (2,1%)). Insgesamt zeigte sich ein annähernd exponentiell verlaufender Fall der absoluten Anzahl von keiner zur stärksten Färbung.

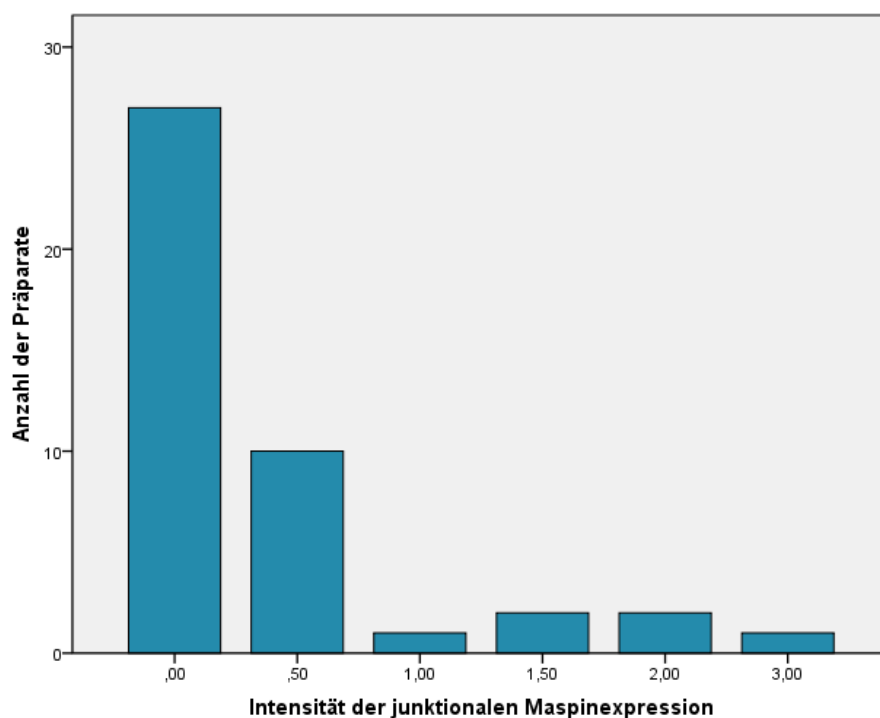


Abbildung 22: Intensität der Maspinexpression junktional (x-Achse) bezogen auf die Anzahl der Präparate (y-Achse). Eigene Darstellung.

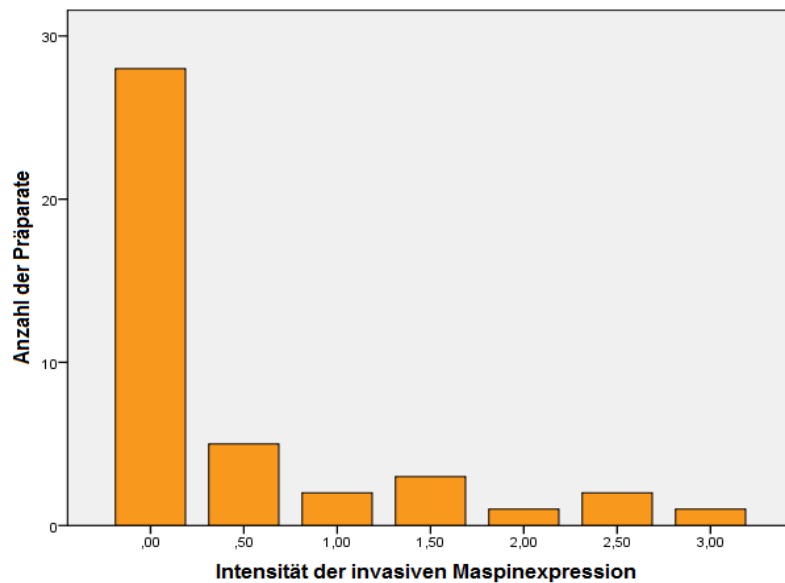


Abbildung 23: Intensität der Maspinexpression invasiv (x-Achse) bezogen auf die Anzahl der Präparate (y-Achse). Eigene Darstellung.

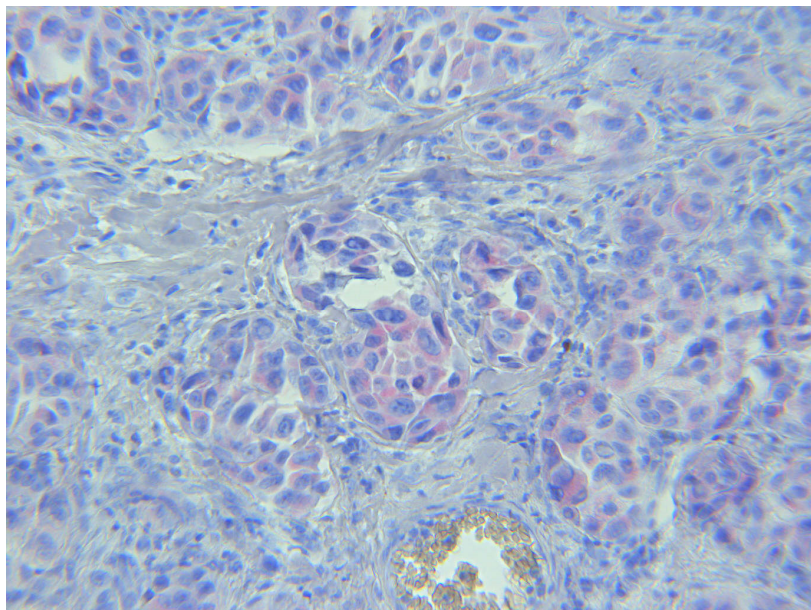


Abbildung 24: Schwache, aber dennoch deutlich erkennbare Expression im dermal-invasiven Teil eines NMM Clark Level V, Tumordicke nach Breslow 4mm, pT4b. Eigene Darstellung, Färbung: HE und Maspin-Antikörper, Vergrößerung 50x.

Die Lokalisation der Maspinfärbung auf zellulärer Ebene war prädominant zytoplasmatisch bei gelegentlicher nukleärer Expression (Abbildung 25).

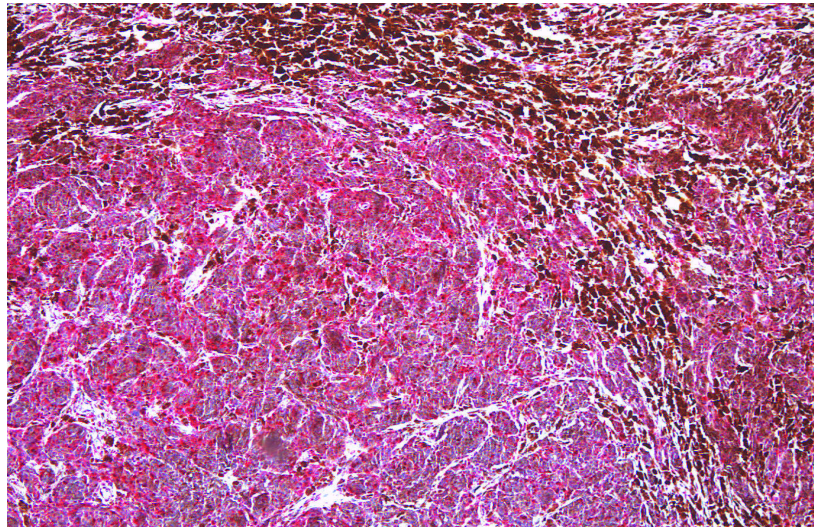


Abbildung 25: Sehr starke Maspinexpression in einem NMM Clark Level V, Tumordicke nach Breslow 12mm, pT4b mit Lymphangiosis carcinomatosa. Eigene Darstellung, Färbung: HE und Maspin-Antikörper, Vergrößerung 10x.

Eine meist kräftige Expression zeigten auch basale Keratinozyten, während sich in umliegender gesunder Haut keinerlei Färbung nachweisen ließ (Abbildung 26).

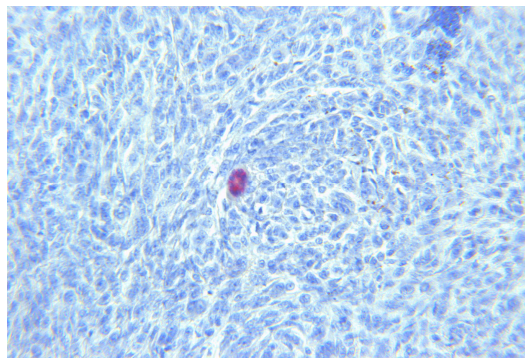


Abbildung 26: Starke Anfärbung der epidermalen Keratinozyten eines NMM Clark Level V, Tumordicke nach Breslow 8mm, pT4b. Eigene Darstellung, Färbung: HE und Maspin-Antikörper, Vergrößerung 50x.

Zusammenfassend zeigte sich meist eine kräftige epidermale Maspinexpression, eine deutlich schwächere bis nicht vorhandene im invasiv-junktionalen Bereich der Melanome und keine Expression in der normalen Haut (Abbildung 27).

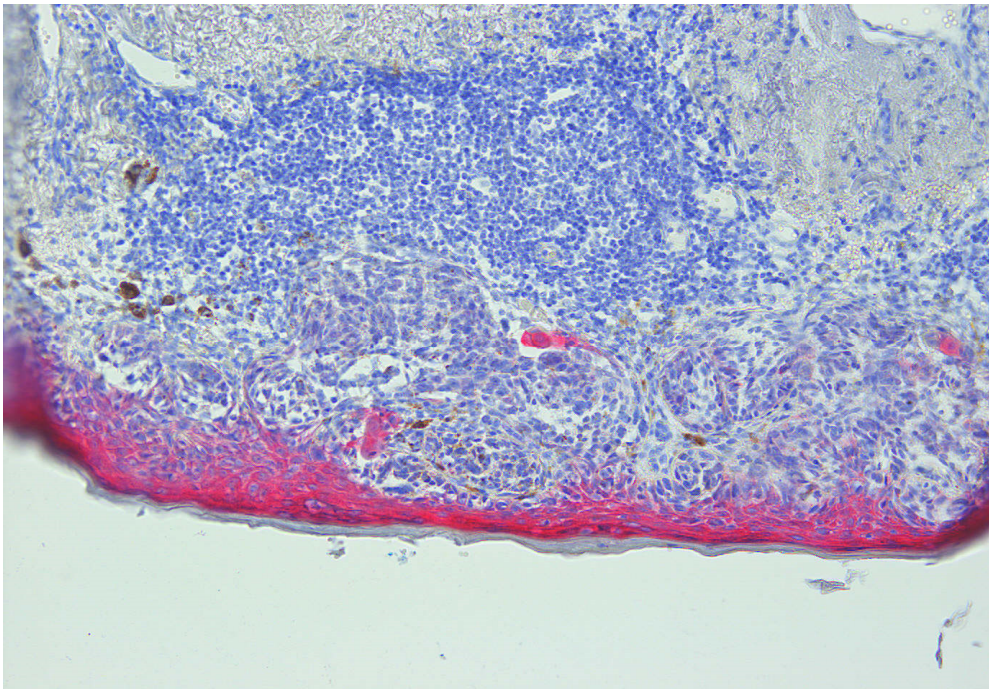


Abbildung 27: Starke Expression im epidermalen Teil eines LMM (Clark Level II, Tumordicke nach Breslow 0,5mm, pT3a) bei schwacher invasiv-junktionaler Färbung. Eigene Darstellung, Färbung: HE und Maspin-Antikörper, Vergrößerung 20x.

4.2) Maspin-Expression bei den verschiedenen Melanom-Subtypen

Bei der Untersuchung der Expression von Maspin je nach zugrunde liegendem Melanomtyp konnten deutliche Unterschiede im Färbemuster für die unterschiedlichen Melanomtypen detektiert werden (Abbildung 28).

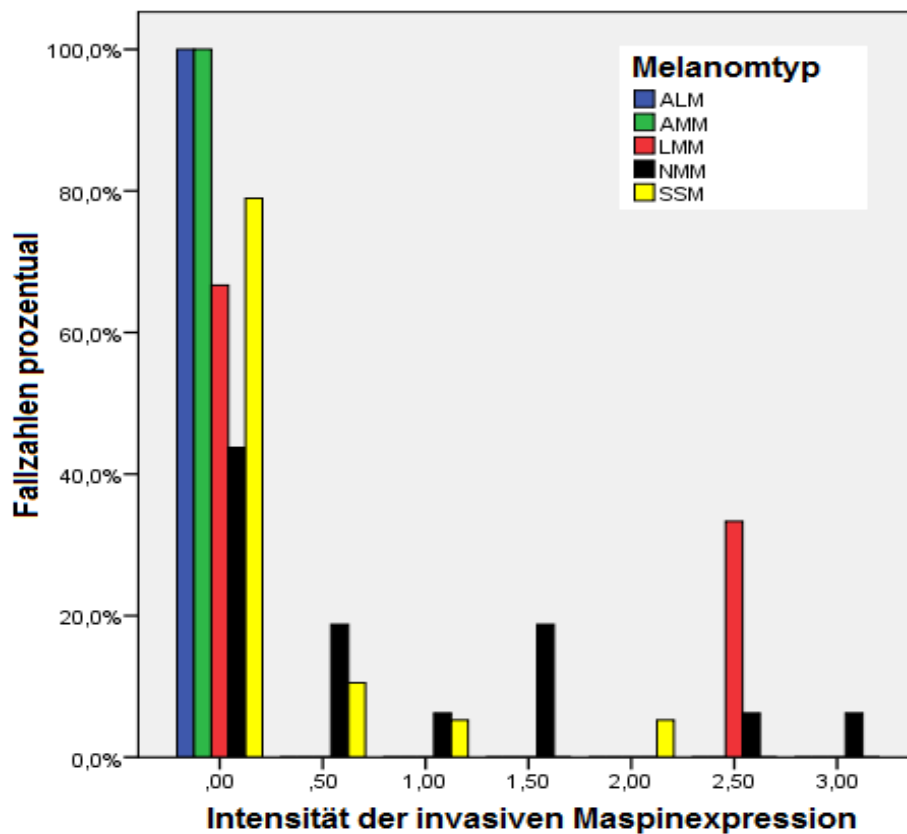


Abbildung 28: Prozentuale Verteilung der Maspin-Expression bei unterschiedlichen Melanom-Subtypen am Beispiel der invasiven Färbung. Eigene Darstellung.

Aufgrund der begrenzten Anzahl lassen sich beim **amelanotischen** Melanom (1 Präparat, sehr schwache epidermale Färbung, keine invasive/junktionale Färbung) und beim **akrolentigiösen** Melanom (3 Präparate mit starker bis sehr starker epidermalen Färbung, einmal schwach positive, sonst negative invasive/junktionale Färbung) keine Ergebnismuster valide feststellen.

Von den 23 **superfiziell spreitenden** Melanomen zeigten fast alle eine sehr starke bis maximale epidermale Expression (85,7% mit Expression $\geq 1,5$). Im junktionalen Teil des Melanoms waren hierbei 14 von 21 auswertbaren Präparaten negativ (66,7%), im invasiven Abschnitt 15 von 19 negativ (78,9%). Eine stärkere Maspinexpression zeigte sich sowohl im invasiven (4 Präparate, 21,1%) als auch im junktionalen (7 Präparate, 33,3%) Abschnitt vergleichsweise deutlich seltener. Insbesondere das Färbeergebnis im invasiven Part zeigte eine steil abfallende Fallzahl für stärkere Färbungen (15 negative Präparate, 2 Präparate mit Intensität 0,5, je 1 Präparat mit Intensität 1 und 2). Die durchschnittliche Färbeintensität betrug 0,21 im invasiven Part des Melanoms.

Von den vier vorliegenden **Lentigo-maligna**-Melanomen zeigten alle eine mittelstarke bis maximale epidermale Expression. Im junktionalen Melanomabschnitt lag bei 2 Präparaten (50%) eine mittelstarke Expression von 1,5 bzw. 2 bei zwei negativen Ergebnissen vor, im invasiven Teil waren von drei auswertbaren Präparaten zwei negativ (66,7%) und eines sehr stark positiv (33,3%). Die durchschnittliche Färbeintensität betrug im invasiven Abschnitt 0,83.

Beim **nodulär malignen** Melanom (16 Präparate) zeigte sich eine hundertprozentige Positivität der Expression in der Epidermis bei relativ äquivalenter Verteilung der Färbestufen zwischen 1 und 3. Im junktionalen Abschnitt ließ sich in 5 von 14 auswertbaren Fällen (35,7%) eine Färbeintensität von 0,5 und in einem Fall (7,1%) eine maximale Färbeintensität von 3 nachweisen. Von besonderer Auffälligkeit ist hier das invasive Expressionsmuster: Nur die Minderheit der Fälle (7 Präparate, 43,8%) zeigte keinerlei Expression, während sich die Mehrzahl (9 Präparate, 56,2%) als positiv in verschiedenen Intensitäten darstellte und somit vergleichsweise viele Ergebnisse im schwach bis stark positiven Bereich auftraten. Im invasiven Abschnitt zeigte sich demnach hier eine durchschnittliche Färbeintensität von 0,78.

Die Maspinexpression im invasiven Part des Tumors bei nodulär malignen Melanomen scheint demnach von besonderer Bedeutung zu sein, da hier im Vergleich zu anderen Melanomtypen sowohl häufiger eine positive Maspinexpression als auch deutlich höhere Werte der Maspinexpression vorlagen. Mittels Chi-Quadrat-Test ließ sich keine Korrelation zwischen Färbeintensität und Melanomtyp ($p = 0,79$) nachweisen. Diese wurde auch zwischen Färbung positiv/negativ und Melanomtyp ($p = 0,13$) nicht signifikant erreicht. Wurden allerdings nur die häufigsten Melanomtypen NMM und SMM betrachtet, konnte zwar keine Korrelation zwischen Färbeintensität und Melanomtyp gezeigt werden ($p = 0,178$), hingegen wurde diese mit $p = 0,032$ für die Korrelation zwischen Melanomtyp und Färbung positiv/negativ erreicht.

4.3) Korrelationen der Maspinexpression mit Staging- und Grading-Parametern

Die Resultate der Maspin-Färbungen wurden in Korrelation mit bekannten Prognoseparametern für das maligne Melanom gesetzt. Hierbei handelte es sich um das Tumorstadium gemäß TNM-Klassifikation des *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* (BALCH 2001b), die S100-Expression im Primarius sowie die Tumordicke nach Breslow und das Clark-Level des Primärtumors.

4.3.1) Korrelation mit TNM-Stadium

Die TNM-Klassifikation erfolgte gemäß der sechsten Edition des AJCC von 2001 (Abbildung 29) (BALCH 2001b), wobei nur das T-Stadium berücksichtigt wurde.

T-Stadium	Tumordicke	Grad der Ulzeration
T1	≤ 1,0 mm	a: ohne Ulzeration und Clark-Level II-III b: mit Ulzeration oder Clark-Level IV-V
T2	1,01 – 2,0 mm	a: ohne Ulzeration b: mit Ulzeration
T3	2,01 – 4,0 mm	a: ohne Ulzeration b: mit Ulzeration
T4	> 4,0 mm	a: ohne Ulzeration b: mit Ulzeration

Abbildung 29: T-Stadium der TNM-Klassifikation des malignen Melanoms der AJCC (eigene Darstellung nach RUITER 2001)

Im junktionalen Abschnitt der Melanome ließ sich keine Korrelation mit dem T-Stadium nachweisen ($p = 0,922$). Im epidermalen Bereich zeigte sich eine Korrelation in Höhe von $p = 0,059$, womit die statistische Relevanz knapp verfehlt wurde. Mit einer Korrelation von $p = 0,023$ konnte diese jedoch im invasiven Abschnitt des Melanoms gezeigt werden (Abbildung 30).

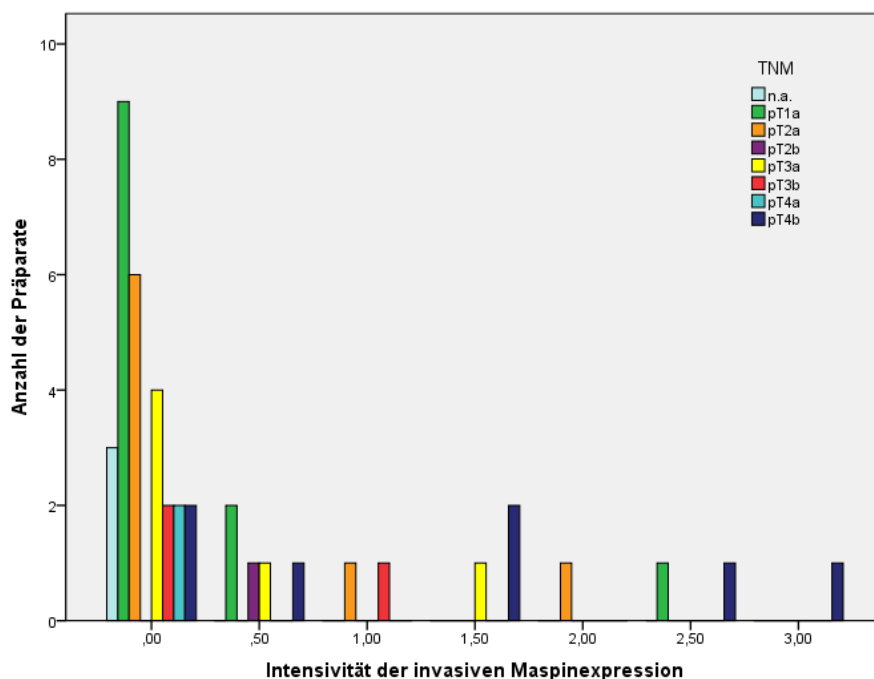


Abbildung 30: Korrelation von T-Stadium (farbige Balken, y-Achse entspricht der jeweiligen Anzahl an Präparaten) mit Färbung im invasiven Bereich (x-Achse). Eigene Darstellung.

4.3.2) Korrelation mit Clark-Level

Es ergab sich keine Korrelation zwischen Clark-Level und der junktionalen Maspinexpression ($p = 0,507$), ebenso wenig mit der epidermalen ($p = 0,432$). Die Korrelation mit dem Färberesultat des invasiven Teils des Melanoms lag mit $p = 0,053$ an der Grenze der statistischen Relevanz.

4.3.3) Korrelation mit Eindringtiefe nach Breslow

Die Eindringtiefe nach Breslow in Millimetern zeigte keine Korrelation mit der Expression von Maspin im epidermalen ($p = 0,316$) und junktionalen ($p = 0,62$) Teil des Melanoms. Eine deutliche statistisch signifikante Korrelation ließ sich zwischen der Eindringtiefe und der Maspinexpression im invasiven Part des Melanoms ($p = 0,002$) nachweisen (Abbildung 31).

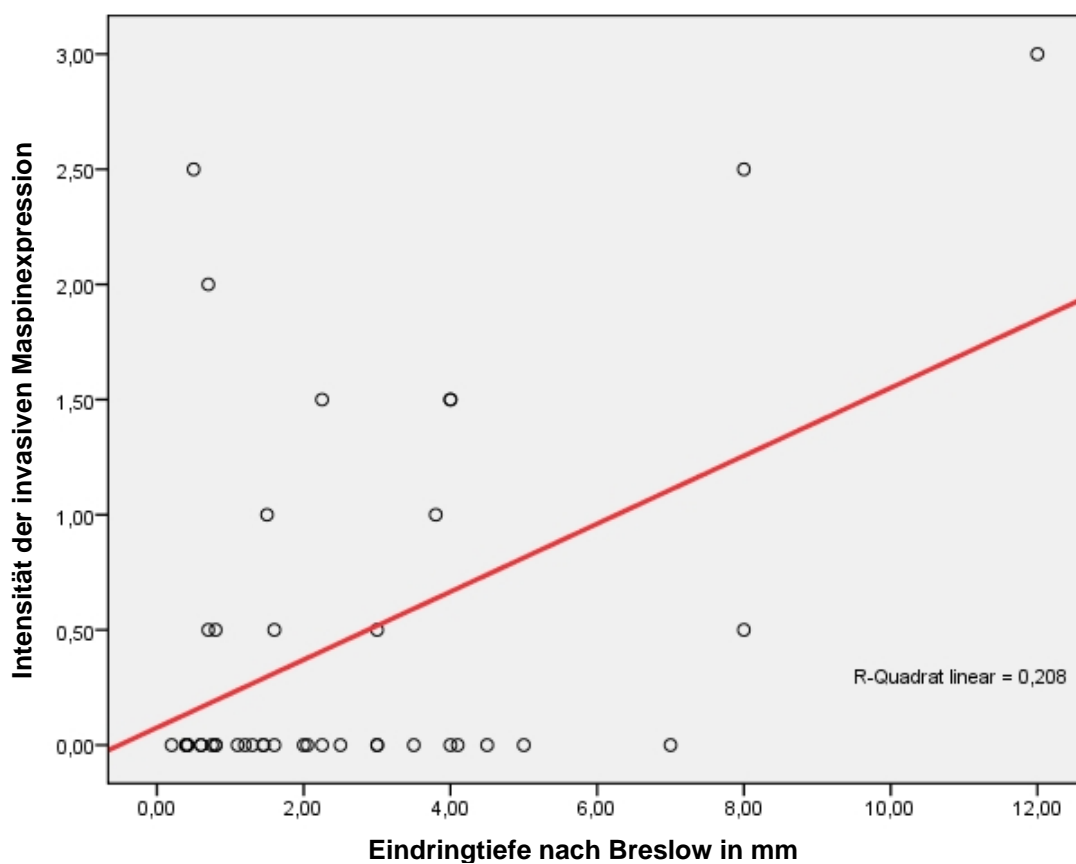


Abbildung 31: Korrelation von Eindringtiefe (x-Achse) mit invasiver Maspinexpression (y-Achse). Schwarze Kreise entsprechen einzelnen Präparaten, der rote Graph beschreibt die daraus berechnete Tendenz/Funktion. Eigene Darstellung.

4.3.4) Korrelation mit S100

Die Expression von S100 im Primarius zeigte keine Korrelation zur Expression von Maspin im junktionalen ($p = 0,708$) und invasiven ($p = 0,905$) Melanomabschnitt, jedoch zur epidermalen Expression mit $p = 0,017$ (Abbildung 32).

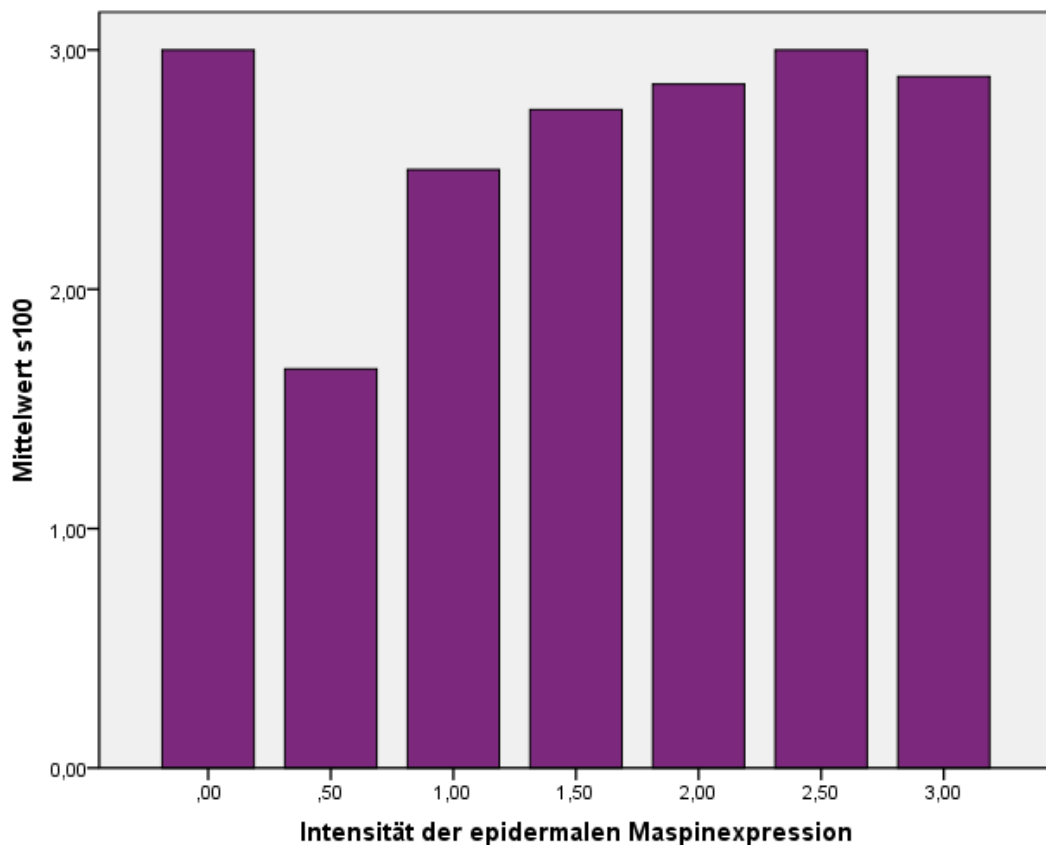


Abbildung 32: Korrelation zwischen epidermaler Maspinexpression (x-Achse) und S100-Expression (y-Achse). Der „Ausreißer“ bei der epidermalen Maspinexpression von 0 in der Grafik lässt sich durch die diesbezügliche Fallzahl von $n = 1$ erklären, während die Fallzahlen stärkerer Expressionen jeweils deutlich höher liegen. Eigene Darstellung.

4.4) Korrelation mit Metastasierung und Tod

Die mittlere zensierte metastasenfreie Zeit betrug 41 Monate bei einem maximalen metastasenfreien Follow-Up von 119 Monaten (bis Zensierung). Insgesamt traten bei 8 Patienten Metastasierungen zwischen dem Monat der Erstdiagnose und dem 16. Monat nach Erstdiagnose auf (Abbildung 33).

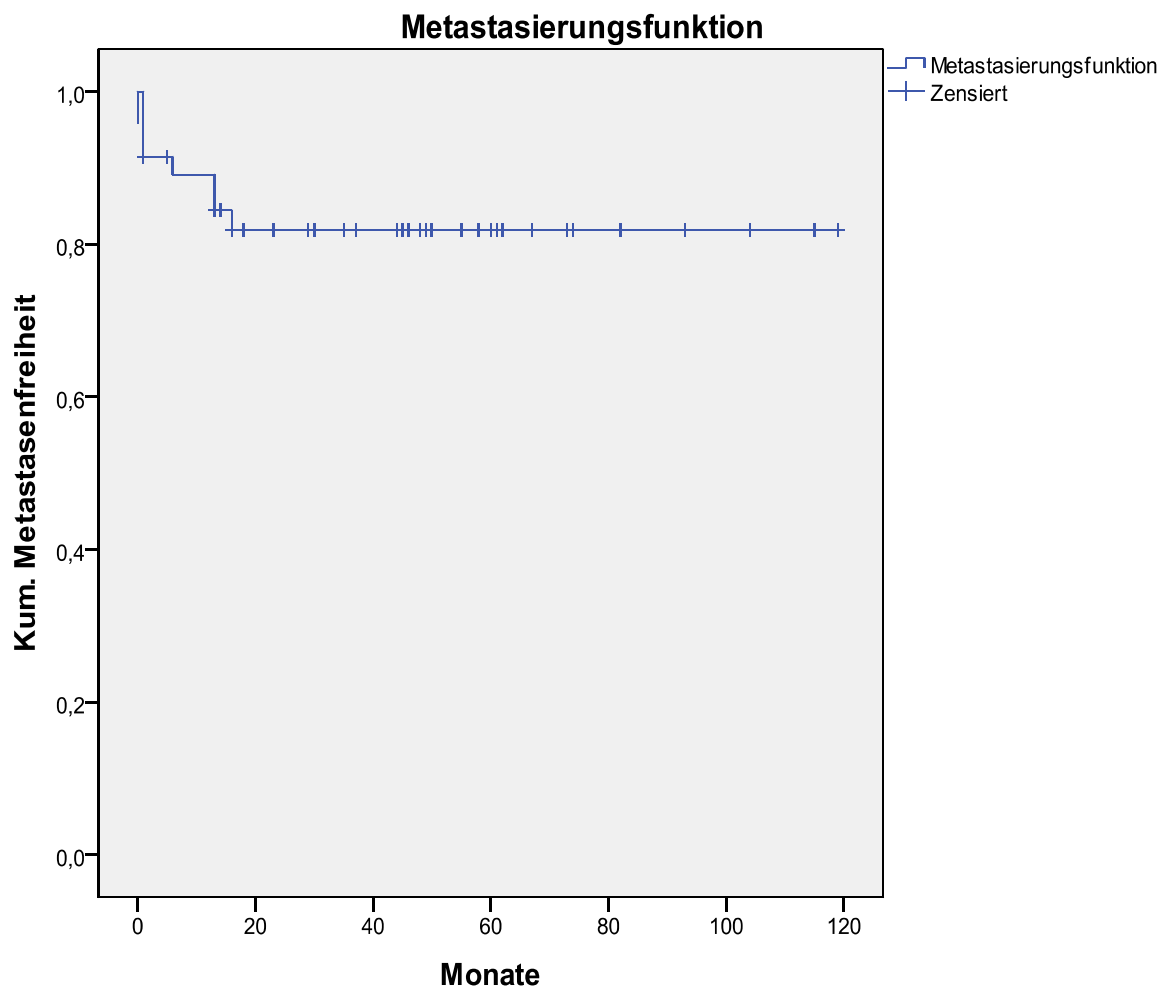


Abbildung 33: Metastasierungsfreie Zeit (PFS) mit zensierten Fällen. Eigene Darstellung.

Die mittlere zensierte Überlebenszeit betrug 45,3 Monate bei einem maximalen Überleben von 119 Monaten (bis Zensierung). Insgesamt verstarben 4 Patienten zwischen dem 10. und 74. Monat nach Erstdiagnose (Abbildung 34).

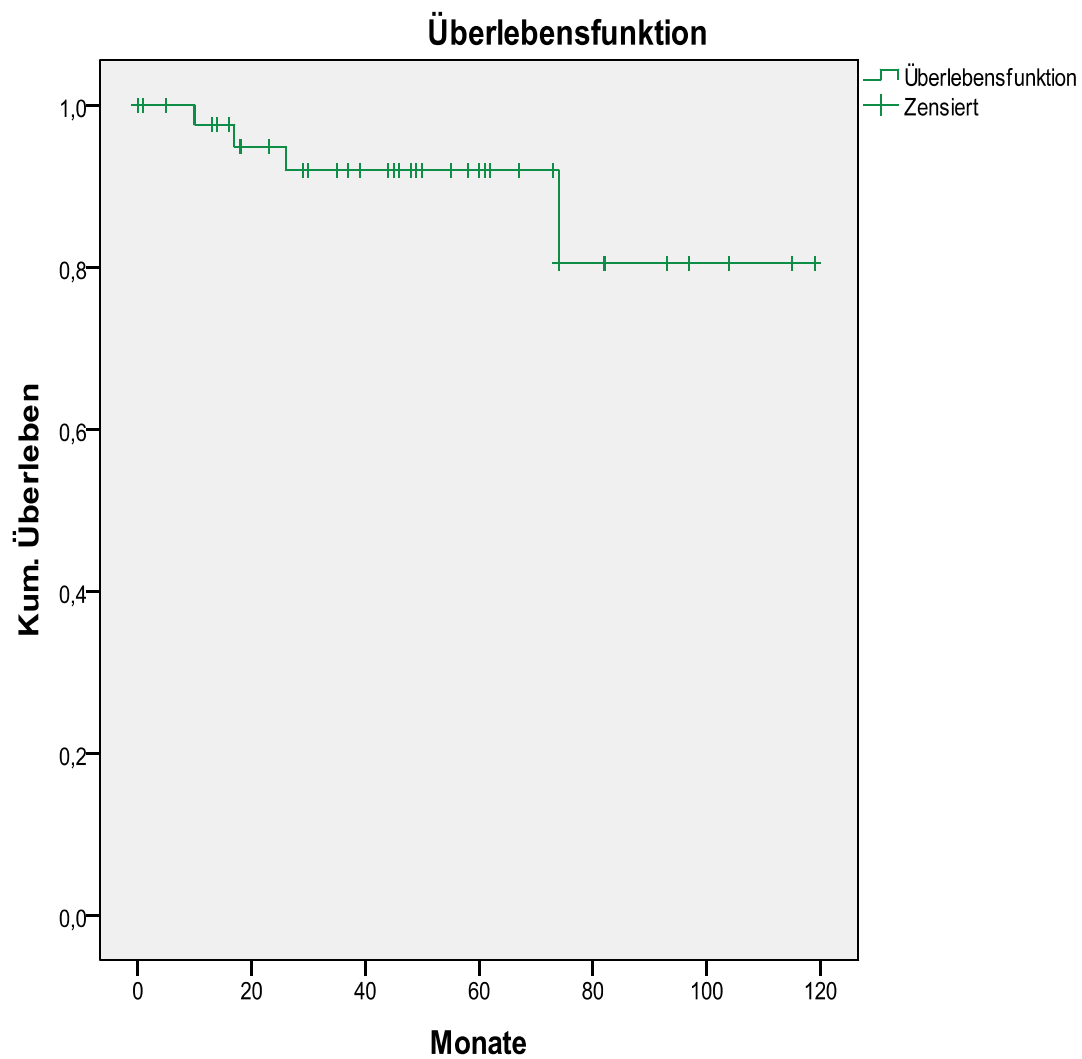


Abbildung 34: Überlebenszeit (OAS) mit zensierten Fällen. Eigene Darstellung.

Aus den Follow-Up-Untersuchungen ergaben sich Informationen über das Auftreten von Metastasen und Todesfällen. Das sich daraus ergebende progressionsfreie Überleben (PFS) und Gesamtüberleben (OAS) wurde mit den Expressionen von Maspin im Primärtumor korreliert. Diese Analyse erfolgte mittels Kaplan-Meier-Kurven. Durch eine Verlängerung des Follow-Up-Zeitraums liegen hierzu Ergebnisse aus einem kürzeren Zeitraum (bis Juli 2009, jeweils erster Wert) und einem längeren Zeitraum (bis Juli 2011, jeweils zweiter Wert) vor.

Darauf bezogen, ob Metastasen und/oder der Tod eintrat (unabhängig vom Zeitpunkt und vom Zeitraum zwischen Erstdiagnose und dem betreffenden Ereignis), zeigte sich epidermal weder für Metastasierung ($p = 0,283$ respektive $0,146$) noch für den Todeseintritt ($p = 0,604$ respektive $0,319$) eine Korrelation zur Maspinexpression. Gleiches galt für die Maspinexpression im junktionalen Teil für Metastasierung ($p = 0,532$ respektive $0,410$) und Tod ($p = 0,883$ respektive $0,672$). Bei der Korrelation des Ergebnisses der invasiven Maspinexpression mit der Metastasierung konnte kein Zusammenhang festgestellt werden ($p = 0,164$ respektive $0,274$). Die anfangs mit $p = 0,019$ noch relevante diesbezügliche Korrelation des OAS ließ sich in der Folge mit $p = 0,164$ nicht mehr nachweisen (Abbildung 35).

Maspin (invasiv)	Gesamtzahl	Anzahl Todesfälle	Zensiert	
			N	Prozent
0,0	28	1	27	1,0
0,5	5	0	5	1,0
1,0	2	0	2	1,0
1,5	3	2	1	0,3
2,0	1	0	1	1,0
2,5	2	1	1	0,5
3,0	1	0	1	1,0
Gesamt	42	4	38	0,9

Abbildung 35: Todesfälle in Abhängigkeit von der Intensität der Maspinfärbung. Eigene Darstellung.

Bezogen auf den Zeitraum zwischen Erstdiagnose und dem Ereignis Metastasenauftritt bzw. Tod konnte epidermal weder für den Zeitraum bis zum Eintritt von Metastasen ($p = 0,235$) noch für den Zeitraum bis zum Todeseintritt ($p = 0,228$) eine Korrelation gezeigt werden. Ebenso verhielt es sich für den junktionalen Teil bezogen auf die Zeiträume bis zum Metastaseneintritt ($p = 0,576$) und Tod ($p = 0,935$). Im invasiven Part zeigte sich ebenfalls keine Korrelation der Maspinexpression mit dem Zeitraum bis zum Auftreten von Metastasen ($p = 0,188$). Hingegen korrelierte dort die Färbeintensität von Maspin signifikant ($p = 0,007$) mit der Überlebenszeit (Abbildungen 36 und 37).

	Chi-Quadrat	Freiheitsgrade	Signifikanz
Log Rank (Mantel-Cox)	7,376	1	0,007

Abbildung 36: Korrelation der invasiven Maspinfärbung mit OAS. Eigene Darstellung.

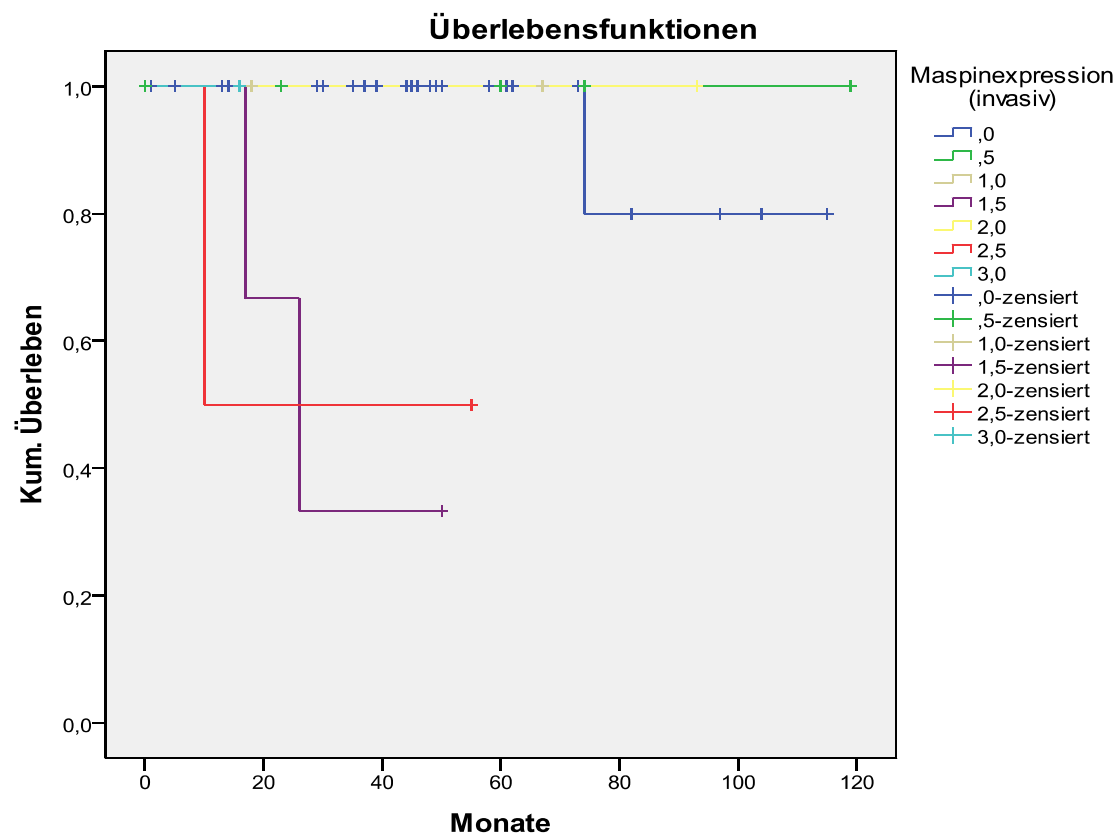


Abbildung 37: Gesamtüberleben in Abhängigkeit von der Intensität der Maspinfärbung. Eigene Darstellung.

5) Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, das Expressionsmuster und die Färbeintensität von Maspin in Primärtumoren von malignen Melanomen zu eruieren und mögliche Korrelationen zu Geschlecht und Alter der Patienten, Subtyp des Melanoms, Tumordicke und -stadium (gemäß der Tumordicke nach Breslow, dem Clark-Level und dem TNM-Stadium) sowie dem progressionfreien Überleben und dem Gesamtüberleben aufzuzeigen. Damit sollte sich die Wertigkeit einer Maspinfärbung in primär kutanen Melanomen als prognostischer Parameter oder Tumormarker im weiteren Sinne, auch im Vergleich mit gebräuchlichen Tumormarkern, beurteilen lassen.

Nach der Entdeckung von Maspin im Jahr 1994 durch ZOU folgten im Anschluss zahlreiche Studien über die Funktion und Wirkungsweise von Maspin. Da erste Ergebnisse für eine Rolle von Maspin als Suppressor der Tumorprogression von Malignomen sprachen, wurde die Expression von Maspin in der Folge an zahlreichen soliden Tumoren untersucht. Für Neoplasien der Haut gelangten die bislang existierenden Studien jedoch nicht zu übereinstimmenden Ergebnissen.

Insbesondere aufgrund der hohen Prävalenz des malignen Melanoms wäre es wünschenswert, eine prognostische Aussage bei Erstdiagnose eines Melanoms treffen zu können. Meilensteine in der Entwicklung von Prognoseparametern bei malignen Melanomen waren die Ergebnisse von ALLEN 1953, CLARK 1969 und BRESLOW 1970, die eine Stadieneinteilung mit prognostischer Aussagekraft zur Folge hatten.

In der Folge wurden zahlreiche Studien unternommen, um die prognostische Aussage von prädiktiven Markern oder Tumormarkern zu präzisieren, unter einer Vielzahl von anderen auch für Maspin. Da hierzu die bisherige Studienlage nicht zu eindeutigen Ergebnissen gelangte, war es Ziel dieser Arbeit, hierzu zusätzliche Studienergebnisse zu erbringen und einen Beitrag zur wissenschaftlichen Bewertung von Maspin als Prognoseparameter bei malignen Melanomen liefern zu können.

Zahlreiche Forschungsgruppen (ZOU 1994, SEFTOR 1998, MAASS 2001a/b, SHI 2002) konnten innerhalb der letzten Jahre aufzeigen, dass ein Verlust der Maspinexpression bei Patientinnen mit Mammakarzinom mit einer schlechteren Prognose vergesellschaftet war und Maspin offenbar als Tumorsuppressorgen fungierte. Konträr hierzu gelangten andere Gruppen zum Ergebnis, dass Maspin bei verschiedenen Malignomen wie Pankreas- und Ovarialkarzinom (CAO 2007, ABD EL-WAHED 2005), aber auch bei bestimmten Formen des Mammakarzinoms (UMEKITA 2002) vielmehr ein Onkogen sei. Dies wurde damit begründet, dass eine erhöhte Maspinexpression im Gewebe mit einer schlechteren Prognose einherging.

2009 untersuchte CHUA die Expression von Maspin in normaler Haut, in Naevi und in primär kutanen Melanomen. Hierbei zeigten alle benignen als auch dysplastischen Naevi eine starke (prädominant nukleäre) Maspinexpression, während die Melanozyten normaler Haut negativ blieben. 78% der Melanome in der primären radialen Wachstumsphase (Tumordicke $<0,76$ mm) und 46% der Melanome in der sekundären vertikalen Wachstumsphase (Tumordicke $>0,76$ mm) waren Maspin-positiv. Zusätzlich konnten signifikante inverse Korrelationen von Maspin mit der Dichte der Tumorangiogenese ($p = 0,018$) sowie der Tumordicke ($p = 0,007$) gezeigt werden. Hieraus folgerte CHUA, dass Maspin vermehrt in dünneren Tumoren mit

geringer Gefäßneubildung exprimiert wird und Maspin vermutlich ein Tumorsuppressorgen sei. Hingegen ergaben die Untersuchungen von VEGF (*vascular endothelial growth factor*), Clark-Level, Breslow-Dicke und Tumorstadium alle eine signifikante positive Korrelation mit der Mikrogefäßdichte bzw. mit dem Gesamtüberleben.

VERECKEN untersuchte 2006 die Schnitte von 76 primären Melanomen, 10 Melanommetastasen und 13 benignen Naevi auf ihre Maspinexpression. Dabei exprimierten 95% der Melanome Maspin in unterschiedlicher Intensität: Stark bei dünnen Primärtumoren, schwächer bei dickeren Melanomen. 31% der benignen Naevi und 70% der Metastasen waren (jeweils schwach) Maspin-positiv.

Beim Vergleich der beiden erläuterten Studien fällt auf, dass deren Ergebnisse stark voneinander abweichen. Dies betrifft insbesondere die Expressionsraten von Maspin in primären Melanomen und benignen Naevi. Auffällig ist dies vor allem deshalb, weil beide Forschungsgruppen den gleichen primären Antikörper (*mouse monoclonal anti-human maspin antibody, Becton Dickinson 550839, clone G167-70*) verwendeten. Für die dieser Arbeit zugrunde liegende Untersuchung wurde ein anderer Antikörper (*mouse monoclonal anti-human maspin antibody, Acris Antibodies, clone EAW24*) verwendet. Dies reduziert die Vergleichbarkeit unserer Ergebnisse mit den Vorarbeiten in einem geringen Grad. Grundsätzlich ist anzumerken, dass bei der Bewertung immunhistochemischer Studien beachtet werden muss, dass meist Standards für die jeweiligen Färbetechniken und deren immunhistochemische Auswertung fehlen. Somit muss in der Regel auf in der Literatur beschriebene Empfehlungen und Erfahrungen zurückgegriffen werden, wobei diese mitunter erheblich voneinander abweichen können.

Auch in unserer Arbeit traten Resultate auf, die zu den Ergebnissen von CHUA (2009) und VEREECKEN (2006) nicht kongruent sind. 97,9% der von uns untersuchten Melanome zeigten eine Expression von Maspin (mindestens im epidermalen Anteil). Außerdem konnte gezeigt werden, dass die Maspinexpression im invasiven Part des Tumors signifikant mit einer größeren Tumordicke und einem höheren Clark-Level korreliert, die ihrerseits bereits alleine für eine schlechtere Prognose sprechen. Es konnte keine statistisch relevante Korrelation zwischen der Maspinexpression im invasiven Part des Melanoms und dem Auftreten von Metastasen oder Tod (über den gesamten Follow-Up-Zeitraum ohne Wichtung der Zeitspanne) gezeigt werden. Es bestand auch keine Korrelation zwischen Färbeergebnis und dem Zeitraum zwischen Erstdiagnose und Metastasenauftritt. Hingegen zeigte sich zwischen Färbeintensität und Gesamtüberleben (OAS) eine statistisch relevante Korrelation.

Dass eine Korrelation nur zwischen Maspinexpression und Gesamtüberleben, nicht jedoch zwischen Maspinexpression und metastasenfreiem Überleben bzw. Maspinexpression und dem Auftreten von Metastasen/Tod unabhängig vom Zeitpunkt nachweisbar war, kann möglicherweise auf der verhältnismäßig geringen Fallzahl beruhen. Auch die unterschiedlich langen Follow-Up-Zeiten könnten hierbei eine Rolle spielen. Hintergrund dessen können beispielsweise Drop-Outs (Lost to Follow-Up) oder Todesfälle aus natürlichen/anderen Ursachen sein. Bei einer Zwischenauswertung divergierten die Follow-Up-Zeiten noch weniger stark. Zu diesem früheren Zeitpunkt waren noch mehr Korrelationen zwischen der Färbeintensität und dem Auftreten von Metastasen/Tod gegeben, sowohl abhängig als auch unabhängig von der Dauer seit Auftritt des Primarius.

Die geringe Anzahl der Präparate beruhte wesentlich auf den hohen Kosten des

Maspin-Antikörpers, sodass bereits im Vorfeld diskutierte mögliche Fehler sich nicht über eine höhere Fallzahl eliminieren ließen. Weitergehende Studien mit entsprechend höheren Fallzahlen wären jedoch zur Validierung der Ergebnisse wünschenswert.

Eine weitere Möglichkeit für die nicht in allen Fällen gegebene relevante Korrelation könnte in einer quantitativ und qualitativ unterschiedlichen Nachsorge liegen: Das mitunter jahrelange Follow-Up erfolgte nicht ausschließlich im Universitätsklinikum des Saarlandes in Homburg/Saar, sondern auch bei niedergelassenen Dermatologen und gelegentlich auch Hausärzten. Gemäß der europäischen Leitlinie von 2010 (GARBE 2010) umfasst die Nachsorge unter anderem die Instruktion zur Selbstuntersuchung, die Feststellung der Tumorfreiheit, die Früherkennung einer Progression und die Überwachung des Pigmentsystems, um atypische Naevi und Zweitmelanome frühzeitig zu identifizieren. In den ersten fünf Jahren nach Erstdiagnose wird eine Nachsorgehäufigkeit von 2-4 pro Jahr empfohlen. Inwieweit die Qualität der Nachkontrollen auf neu aufgetretene Metastasierungen im ambulanten Sektor diese Kriterien erfüllt und somit leitliniengerecht ist, bleibt im Einzelfall unklar. Fehler im Sinne einer Dunkelziffer an neu auftretenden Metastasen sind somit nicht auszuschließen. Zuletzt könnte auch die subjektive quantitative Auswertung der Expression von Maspin eine Rolle spielen. Hier wurde eine Fehlinterpretation jedoch bestmöglich minimiert, indem die Interpretation der Ergebnisse unabhängig voneinander durch zwei Befunder vorgenommen wurde.

In diesem Zusammenhang ist außerdem zu erwähnen, dass Metastasen zwar grundsätzlich die Prognose verschlechtern, sich jedoch je nach Metastasierungslokalisation sehr unterschiedlich verhalten: BALCH zeigte 2001b im

„American Joint Committee on Cancer Staging System for Cutaneous Melanoma“ auf, dass Hautmetastasen eine hochsignifikant bessere Prognose aufweisen als Lungenmetastasen und diese wiederum eine ebenfalls hochsignifikant bessere als Leber- und Hirnmetastasen.

Da es in unserem ohnehin kleinen Kollektiv nur in wenigen Fällen zum Auftreten von Metastasen im Beobachtungszeitraum kam, wurde auf eine statistische Auswertung im Hinblick auf die Lokalisierung der Metastasen verzichtet. Es erscheint zumindest denkbar, dass möglicherweise nur deshalb keine Korrelation zwischen Maspinexpression und der Metastasierung gezeigt werden konnte, weil prognostisch sehr unterschiedliche Metastasierungslokalisierungen gemeinsam betrachtet wurden.

Eine Adjustierung der p-Werte für multiples Testen wurde nicht vorgenommen, so dass eine höhere Irrtumswahrscheinlichkeit möglich ist

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass der von uns festgestellte Anteil Maspin-positiver Melanome sich von den Ergebnissen anderer Forschungsgruppen unterscheidet.

Weitergehende Analysen unserer Gruppe, die nicht integraler Bestandteil dieser Arbeit waren, ergaben zusätzlich, dass unterschiedliche Ergebnisse auch für das Muster der Färbung gefunden wurden. Vier von uns untersuchte Zelllinien (SK Mel 5, SK Mel 28, Mel Juso und MeWo) zeigten eine starke Maspinexpression, während die auf PCR-Untersuchungen beruhenden Beobachtungen von DENK 2007 (keine Expression bei 10/10 Melanom-Zelllinien inklusive SK Mel 28) und WADA 2004 (keine Expression bei 4/5 Melanom-Zelllinien) andere Ergebnisse lieferten. Die

Färbeintensität und die Expressionslokalisation (bevorzugt zytoplasmatisch) unterschieden sich in den vier untersuchten Linien nicht wesentlich. Es zeigte sich somit insbesondere kein Unterschied zwischen metastatischen Zelllinien wie SK Mel 5 und Zelllinien, die aus Primärmelanomen stammen wie z.B. Mel Juso. Wurden die Zelllinien hingegen mit 5-Aza-dC (Decitabine / Dacogen®) demethyliert, zeigten sie sämtlich Maspin-Positivität. Dies weist darauf hin, dass die Expression von Maspin – wie die verschiedener anderer Tumorsuppressorgene auch – durch epigenetische Modifizierung im Sinne einer Methylierung am Promotor reguliert wird. So zeigte BOLTZE 2003b, dass beim Schilddrüsenkarzinom über eine Methylierung die Expression des Promotors Maspin supprimiert wird. Ähnliches gilt für das kolorektale Karzinom (BETTSTETTER 2005). KHALKHALI-ELLIS hingegen zeigte 2006, dass eine Überexprimierung von Maspin bei Krebsentitäten wie Magen-, Pankreas- und Ovarialkarzinom auf einer Demethylierung des Promoters beruht. Abweichende Promoter-Konfigurationen im Sinne von Hyper- und Hypomethylierung sind bei Melanom-Zelllinien weit verbreitet, wie TELLEZ 2009 nachweisen konnte.

Abschließend bleibt festzuhalten, dass die Färbe- und damit Expressionsresultate von Maspin zwischen allen Gruppen voneinander abwichen, sowohl was die Anzahl der positiven Schnitte als auch was das Färbemuster angeht. Dieser Divergenz liegt möglicherweise eine epigenetische Veränderung der Maspinexpression zugrunde. Zu berücksichtigen ist jedoch auch die Verwendung unterschiedlicher Antikörper, was ebenfalls zu unterschiedlichen Resultaten beigetragen haben könnte.

In dieser Untersuchung zeigte die Maspinexpression im invasiven Part des Melanoms eine Korrelation mit der Tumordicke nach Breslow, der Eindringtiefe nach Clark und dem Tumorstadium. Für die Expression im epidermalen und junctionalen

Teil des Tumorschnitts ließ sich hingegen keine Korrelation nachweisen. Dies entspricht der Beobachtung von DIETMEIER 2006, der für das kolorektale Karzinom zeigen konnte, dass eine Maspinfärbung in erster Linie im invasiven Tumorabschnitt auftrat. Dies war mit einer erhöhten lokalen Tumordinfiltration und Aggressivität sowie einer Progredienz der Erkrankung verbunden. Aus diesem Grund scheint die Betrachtung des invasiven Parts von primär kutanen Melanomen im Hinblick auf die Maspinexpression die wichtigste Rolle zu spielen und eine dort detektierbare starke Maspinexpression für einen aggressiven Phänotyp des Melanoms zu sprechen.

Kombinationen aus verschiedenen prognostischen Markern erlauben nach UTIKAL 2007 sowie UGUREL 2009 die derzeit detaillierteste prognostische Voraussage.

Für die Anforderungen an die Charakteristik des idealen Tumormarkers bzw. prädiktiven Markers existieren zahlreiche Vorschläge, jedoch keine allgemeingültigen Kriterien. BIGBEE (2003) forderte beispielsweise, dass der ideale Tumormarker organspezifisch, einfach nachweisbar, spezifisch, früh, in nachweisbaren Mengen produziert werden, quantitativ korrelieren, eine geringe Halbwertszeit haben sowie in einem Standardverfahren reproduzierbar sein müsse. Gemäß MCSHANE (2005) muss eine Verbindung zu einem klinischen Outcome bestehen und der prognostische Marker im klinischen Management des Patienten berücksichtigt werden. HENRY stellte 2006 drei Anforderungen auf: Klarer Nutzen, klare Unterschiede in Outcome oder Behandlung bei positivem bzw. negativem Marker und verlässliche Ergebnisse. DIAMANDIS forderte 2004 neben hoher Sensitivität, Spezifität und prädiktivem Wert eine dadurch ermöglichte bessere Diagnose, Prognose und Abschätzung des therapeutischen Ansprechens.

Diese Anforderungen erfüllt Maspin beim malignen Melanom gemäß unserer Studie bei relativ geringer Fallzahl derzeit nicht.

Aufgrund der stark inkongruenten Ergebnisse verschiedener Forschungsgruppen ist die Bestimmung der Maspinexpression über immunhistochemische Verfahren im Zuge von routinemäßig durchgeführten diagnostischen Verfahren beim Melanom derzeit nicht indiziert.

Weitere Forschungsanstrengungen mit größeren Fallzahlen wären wünschenswert, um die Rolle von Maspin beim Melanom abschließend und eindeutig klären zu können.

6) Anlagen

6.1) Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau der Haut (normale Felderhaut). Eigene Darstellung, Färbung: HE, Vergrößerung: dem Maßbalken im Bild entsprechend.	13
Abbildung 2: Inzidenz des malignen Melanoms 1970-2000 (Robert-Koch-Institut nach Zahlen des Saarländischen Krebsregisters, BREITBART 2004)	17
Abbildung 3: ABCDE-Regel (eigene Darstellung nach BRODELL 1998)	19
Abbildung 4: Diagnostische Taxonomie zur Beurteilung von Hautläsionen (eigene Darstellung nach BLUM 2005)	20
Abbildung 5: Mehrstufiger Algorithmus zur Beurteilung von Hautläsionen (eigene Darstellung nach STOLZ 2004)	21
Abbildung 6: Modifizierte ABC-Regel (eigene Darstellung nach BLUM 2003b)	22
Abbildung 7: Häufigkeit der Melanom-Subtypen (eigene Darstellung, gerundet nach GARBE 1995 / 2001 / 2006a / 2009)	23
Abbildung 8: NMM (Wade, eigenes Foto)	25
Abbildung 9: SSM (Bauch, eigenes Foto)	25
Abbildung 10: LMM (Wange, eigenes Foto)	25
Abbildung 11: ALM (Daumen, eigenes Foto)	25
Abbildung 12: Eigenschaften der Melanom-Subtypen (eigene Darstellung nach MOLL 2005)	25
Abbildung 13: Klassifizierung nach CLARK (deskriptiv). Eigene Darstellung nach CLARK 1969.	27

Abbildung 14: Klassifizierung nach CLARK (grafisch). Eigene Darstellung nach CLARK 1969. Vergrößerung: dem Maßbalken im Bild entsprechend (Dicke abhängig von der Lokalisation am Körper).	27
Abbildung 15: Melanoma in situ (LMM). Eigene Darstellung, Färbung: HE, Vergrößerung: dem Maßbalken im Bild entsprechend.	31
Abbildung 16: Superfiziell spreitendes Melanom. Eigene Darstellung, Färbung: HE, Vergrößerung: Vergrößerung: dem Maßbalken im Bild entsprechend.	32
Abbildung 17: Kristallstruktur von Maspin mit reaktiver Seitenkette (lila) aus: LAW 2005	36
Abbildung 18: Patientendaten (eigene Darstellung)	44
Abbildung 19: Semiquantitative Auswertung der Färbeintensität (eigene Darstellung)	47
Abbildung 20: Intensität der Maspinexpression epidermal (x-Achse) bezogen auf die Anzahl der Präparate (y-Achse). Eigene Darstellung.	50
Abbildung 21: Sehr starke Expression von Maspin in der Epidermis am Beispiel eines LMM, Clark Level III, Tumordicke nach Breslow 0,44mm, pT1a. Eigene Darstellung, Färbung: HE und Maspin-Antikörper, Vergrößerung: 20x.	51
Abbildung 22: Intensität der Maspinexpression junctional (x-Achse) bezogen auf die Anzahl der Präparate (y-Achse). Eigene Darstellung.	52
Abbildung 23: Intensität der Maspinexpression invasiv (x-Achse) bezogen auf die Anzahl der Präparate (y-Achse). Eigene Darstellung.	53

Abbildung 24: Schwache, aber dennoch deutlich erkennbare Expression im dermal-invasiven Teil eines NMM Clark Level V, Tumordicke nach Breslow 4mm, pT4b. Eigene Darstellung, Färbung: HE und Maspin-Antikörper, Vergrößerung 50x.	53
Abbildung 25: Sehr starke Maspinexpression in einem NMM Clark Level V, Tumordicke nach Breslow 12mm, pT4b mit Lymphangiosis carcinomatosa. Eigene Darstellung, Färbung: HE und Maspin-Antikörper, Vergrößerung 10x.	54
Abbildung 26: Starke Anfärbung der epidermalen Keratinozyten eines NMM Clark Level V, Tumordicke nach Breslow 8mm, pT4b. Eigene Darstellung, Färbung: HE und Maspin-Antikörper, Vergrößerung 50x.	54
Abbildung 27: Starke Expression im epidermalen Teil eines LMM (Clark Level II, Tumordicke nach Breslow 0,5mm, pT3a) bei schwacher invasiv-junktionaler Färbung. Eigene Darstellung, Färbung: HE und Maspin-Antikörper, Vergrößerung 20x.	55
Abbildung 28: Prozentuale Verteilung der Maspin-Expression bei unterschiedlichen Melanom-Subtypen am Beispiel der invasiven Färbung. Eigene Darstellung.	56
Abbildung 29: T-Stadium der TNM-Klassifikation des malignen Melanoms der AJCC (eigene Darstellung nach RUITER 2001)	59
Abbildung 30: Korrelation von T-Stadium (farbige Balken, y-Achse entspricht der jeweiligen Anzahl an Präparaten) mit Färbung im invasiven Bereich (x-Achse). Eigene Darstellung.	60
Abbildung 31: Korrelation von Eindringtiefe (x-Achse) mit invasiver Maspinexpression (y-Achse). Eigene Darstellung.	61

Abbildung 32: Korrelation zwischen epidermaler Maspinexpression (x-Achse) und S100-Expression (y-Achse). Eigene Darstellung.	62
Abbildung 33: Metastasierungsfreie Zeit (PFS) mit zensierten Fällen. Eigene Darstellung.	63
Abbildung 34: Überlebenszeit (OAS) mit zensierten Fällen. Eigene Darstellung.	64
Abbildung 35: Todesfälle in Abhängigkeit von der Intensität der Maspinfärbung. Eigene Darstellung.	65
Abbildung 36: Korrelation der invasiven Maspinfärbung mit OAS. Eigene Darstellung.	66
Abbildung 37: Gesamtüberleben in Abhängigkeit von der Intensität der Maspinfärbung. Eigene Darstellung.	67

6.2) Tabelle mit allen Patientendaten

Lfd. Nr.	Diagnose	* Geb	Sex	CLARK	Breslow	TNM	S100	ED	Met T	Met	Tod T	Tod	letzte U
01	SSM	28.05.1951	2	2	0,42	pT1a		07/2001	keine	0	kein	0	02/2011
02	SSM	21.06.1936	1	2	0,70	pT1a	2	07/2001	keine	0	kein	0	06/2011
03	NMM	22.09.1940	2	2	0,40	pT1a	2	08/2001	09/2001	1			09/2001
04	SSM	22.09.1936	1	2	0,60	pT1a	3	12/2001	keine	0	kein	0	10/2008
05	SSM	23.03.1964	2	3	2,00	pT3a	2	12/2001	keine	0	kein	0	08/2010
06	SSM	03.11.1960	1	3	0,70	pT2a	2	12/2001	keine	0	kein	0	09/2009
07	SSM	11.05.1971	2	2	0,80	pT1a	3	02/2002	keine	0	kein	0	07/2004
08	NMM	25.12.1923	2	4	4,10	pT4b	3	03/2002	keine	0	05/2008	1	05/2008
09	ALM	13.01.1924	2	4	3,50	pT3b	2	07/2002	keine	0	kein	0	08/2007
10	AMM	30.07.1950	2		2,25		2	09/2002	keine	0	kein	0	10/2008
11	NMM	18.07.1939	2	4	1,45	pT2a	2	02/2003	06/2004	1	kein	0	03/2011
12	SSM	13.05.1958	2	2	0,80	pT1a	3	07/2003	keine	0	kein	0	09/2008
13	NMM	23.08.1938	1	4	1,60	pT2b	2	07/2003	07/2003	1	kein	0	08/2010
14	SSM	08.04.1962	2	3	1,50	pT2a	3	08/2003	keine	0	kein	0	02/2005
15	NMM	30.01.1976	2	3	0,80	pT1a	3	05/2004	keine	0	kein	0	07/2010
16	NMM	13.11.1938	2	4	3,80	pT3b	2	12/2004	keine	0	kein	0	07/2010
17	SSM	10.09.1934	1	2	0,60	pT1a	3	04/2005	keine	0	kein	0	05/2009
18	SSM	09.03.1941	1	3	1,20	pT2b	2	02/2006	02/2006	1	kein	0	03/2011
19	NMM	14.09.1936	1	3	8,00	pT4b	3	02/2006	keine	0	kein	0	02/2011
20	SSM	09.01.1947	1	2	0,30	pT1a	3	02/2006	keine	0	kein	0	03/2006
21	SSM	03.01.1968	1	2	0,25	pT1a	3	03/2006	keine	0	kein	0	10/2010
22	NMM	11.08.1938	2	4	4,00	pT4a	3	03/2006	keine	0	kein	0	05/2011
23	LMM	11.11.1923	2	0	0,40	pT1a	3	05/2006	keine	0	kein	0	04/2009
24	SSM	08.08.1941	2	2	0,75		1	06/2006	keine	0	kein	0	12/2008
25	SSM	07.02.1923	2	2	0,20	pT1a		06/2006	keine	0	kein	0	04/2011
26	NMM	12.05.1955	2	5	4,00	pT4b	3	06/2006	07/2007	1	11/2007	1	11/2007
27	SSM	04.09.1949	1	4	2,05	pT3a	3	07/2006					08/2006
28	LMM	31.07.1936	1	2	0,50	pT1a	3	12/2006	keine	0	kein	0	07/2011
29	NMM	27.12.1954	1	3	2,25	pT3a	3	01/2007	02/2008	1	03/2009	1	03/2009
30	NMM	15.04.1950	2	5	7,00	pT4b	3	01/2007	keine	0	kein	0	06/2007
31	SSM	28.12.1941	1	3	1,45	pT2a	4	01/2007	keine	0	keine	0	03/2011
32	SSM	05.08.1956	1	2	0,60	pT1a		02/2007	keine	0	kein	0	04/2011
33	NMM	21.05.1951	1	2	4,00	pT4b	3	03/2007	keine	0	kein	0	05/2011
34	SSM	05.09.1951	1	3	1,20	pT2a	3	04/2007	keine	0	kein	0	04/2011
35	SSM	16.11.1928	1	3	3,00	pT3a	3	05/2007	keine	0	kein	0	03/2011
36	NMM	29.03.1931	1	3	2,50	pT3a	3	05/2007	keine	0	kein	0	07/2008
37	SSM	03.07.1949	2	3	3,00	pT3a	4	05/2007	keine	0	kein	0	04/2009
38	SSM	31.12.1949	1	2	1,10	pT2a		07/2007	keine	0	kein	0	04/2011
39	ALM	25.08.1928	2	3	5,00			09/2007	keine	0	kein	0	05/2011
40	LMM	22.07.1923	2	3	0,40	pT1a		09/2007	keine	0	kein	0	10/2007
41	NMM	07.03.1969	2	5	12,00	pT4b		09/2007	keine	0	kein	0	01/2009
42	LMM	09.06.1935	2	2	0,40	pT1a		10/2007	keine	0	kein	0	07/2011
43	NMM	26.03.1938	1	5	8,00	pT4b		01/2008	07/2008	1	11/2008	1	11/2008
44	SSN	22.01.1941	2	3	3,00	pT3b		02/2008	03/2008	1	kein	0	05/2011
45	ALM	07.04.1943	1	4	4,50	pT4a		02/2008	keine	0	kein	0	03/2009
46	SSM	05.01.1988	2	3	1,30	pT2a		02/2008	keine	0	kein	0	03/2009
47	NMM	13.08.1955	2	3	1,60	pT2a	3	03/2008	keine	0	kein	0	04/2011

6.3) Studien über Maspin als Tumorsuppressorgen / Onkogen

6.3.1) Tumorsuppressive Eigenschaften (Auswahl)

Tumorentität	Referenz	Maspin-Effekt
Mamma	Seftor 1998	inhibiert Invasivität
	Shi 2001	blockt Wachstum, Invasivität und Metastasierung
	Maass 2001a	höheres Risiko für Fernmetastasen bei verminderter Expression
	Shi 2002	Inhibition der Progression
	Jiang 2002	sensibilisiert für induzierte Apoptose
	Sopel 2005	geringere Gefäßdichte
	Stark 2010	inverse Korrelation mit Metastasierung
	Beltran 2011	induziert Apoptose
Haut (Melanome)	Denk 2007	verringert Invasivität
Harnblase	Beecken 2006	gesteigertes Wachstum bei geringerer Expression
Kehlkopf	Marioni 2005	weniger Rezidive
Kolon	Song 2002	geringere Gefäßdichte

	Boltze 2005	bei geringerer Expression höhere p53-Aktivität / mehr Rezidive / kürzere metastasenfreie Zeit / geringere Lebenserwartung
	Zheng 2007	inverse Korrelation Expression – Lebermetastasen
Lunge	Katakura 2006	positive Korrelation mit p53, höhere Lebenserwartung
	Nakagawa 2006	höhere Lebenserwartung
	Takanami 2008	höhere Lebenserwartung, längeres progressionsfreies Überleben
Magen	Wang 2004	stärkere Progression bei reduzierter Expression
	Ito 2004a	stärkere Progression bei reduzierter Expression
	Zheng 2004	inverse Korrelation mit Invasionstiefe, Metastasen, Histologie
Niere	Blandamura 2006	inverse Korrelation mit Metastasen
Ovar	Secord 2006	inverse Korrelation mit Progression/Tod
	Surowiak 2006	bei geringer Expression kürzeres Gesamtüberleben/progressionsfreies Überleben
Prostata	Cher 2003	inhibiert Osteolyse, Wachstum und Angiogenese
	McKenzie 2008	vermindert Tumordicke, und Neovaskularisierung
	Hall 2008	verhindert Knochenmetastasierung
Speicheldrüse	Navarro 2004	Verlust Expression von normalem Gewebe zum CA
Schilddrüse	Boltze 2003a	verhindert lokale Invasivität und systemische Progression
Zunge	Yasamutsu 2001	längeres tumorfreies Intervall, weniger LK-Metastasen

6.3.2) Onkogene Eigenschaften (Auswahl):

Tumorentität	Referenz	Maspin-Effekt
Mamma	Umekita 2002	größere Tumoren, höheres histologisches Grading, schlechtere Prognose
	Umekita 2003	größere Tumoren, höheres histologisches Grading
	Tsoli 2007	höheres Stadium, schlechtere Prognose
	Lee 2006	hohe Invasivität, Tumorgroße, Dedifferenzierung, schlechte Prognose
	Umekita 2011	höheres histologisches Grading & Korrelation mit verschiedenen Tumormarkern
Endometrium	Murai 2006	korreliert mit Tumordifferenzierung
	Tsuji 2007	Überexpression während Progression
	Li 2007	Überexpression in CA (vs. Normalgewebe)
Gallenblase	Maesawa 2006	intestinale Metaplasien
	Kim 2010	Korrelation mit Anstieg von Dysplasie zu Karzinom
Harnblase	Sugimoto 2004	Überexpression in CA (vs. Normalgewebe)
Haut	Reis-Filho 2002	Überexpression in CA (vs. Normalgewebe)
	Wada 2004	Überexpression bei einigen Melanomen

Kolon	Bettstetter 2005	Überexpression in CA (v.a. bei undifferenzierten Tumoren & an der Invasionsfront)
	Umekita 2006	Überexpression in CA; aggressives Wachstum
	Zheng 2007	Steigende Expression in der Adenom-Karzinom-Sequenz
	Dietmaier 2006	schlechtere Prognose
Lunge	Hirai 2005	Überexpression in CA, schlechtere Prognose
Magen	Son 2002	Überexpression in Adeno-CA & intestinalen Metaplasien
	Akiyama 2003	Überexpression in Adeno-CA & intestinalen Metaplasien
	Terashima 2005	Überexpression in CA, LK-Metastasen
	Song 2007	Überexpression in CA, höheres Stadium, mehr LK-Metastasen
	Yu 2007	Metastasen, höhere Invasionstiefe, höheres TNM-Stadium, schlechtere Prognose
Ovar	Solomon 2006	Überexpression in CA; schlechtere Prognose (bei zytoplasmatischer Lokalisation)
	Sood 2002	Überexpression in CA, schlechtere Prognose, geringere Differenzierung
	Rose 2006	Expression in CA vs. Normalgewebe
	Bolat 2008	Korrelation mit VEGF, höheres Tumorgrad, höheres Stadium, LK-Metastasen, Aggressivität, schlechtere Prognose
	Abd El-Wahed 2005	mehr Metastasen, schlechtere Prognose, höheres Stadium

Pankreas	Ohike 2003	Expression in CA vs. Normalgewebe
	Fitzgerald 2003	Expression in CA vs. Normalgewebe
	Nash 2007	Expression in CA vs. Entzündung
	Lim 2004	schlechtere Prognose, höheres Stadium
	Cao 2007	Expression in CA vs. Normalgewebe, schlechtere Prognose
Speicheldrüse	Nakashima 2006	höheres Stadium
Schilddrüse	Ito 2004b	aggressives Wachstum, hohes Stadium, hohe Invasivität
Schilddrüse	Ogasawara 2004	undifferenziertere Tumoren
Kopf und Hals	Mhawech-Fauceglia 2007	schlechtere Prognose

6.4) Literaturliste

1. Abd El-Wahed, M. M. (2005): Expression and subcellular localization of maspin in human ovarian epithelial neoplasms: correlation with clinicopathologic features. In: *J Egypt Natl Canc Inst* 17 (3), S. 173–183.
2. Akiyama, Y.; Maesawa, C.; Ogasawara, S.; Terashima, M.; Masuda, T. (2003): Cell-type-specific repression of the maspin gene is disrupted frequently by demethylation at the promoter region in gastric intestinal metaplasia and cancer cells. In: *Am. J. Pathol* 163 (5), S. 1911–1919.
3. Allen, A. C.; Spitz, S. (1953): Malignant melanoma; a clinicopathological analysis of the criteria for diagnosis and prognosis. In: *Cancer* 6 (1), S. 1–45.
4. Argenziano, G.; Fabbrocini, G.; Carli, P.; De, G.; Sammarco, E.; Delfino, M. (1998): Epiluminescence microscopy for the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. Comparison of the ABCD rule of dermatoscopy and a new 7-point checklist based on pattern analysis. In: *Arch Dermatol* 134 (12), S. 1563–1570.
5. Argenziano, G.; Soyer, H. P.; Chimenti, S.; Talamini, R.; Corona, R.; Sera, F. et al. (2003): Dermoscopy of pigmented skin lesions: results of a consensus meeting via the Internet. In: *J. Am. Acad. Dermatol* 48 (5), S. 679–693.
6. Autier, P.; Doré, J. F.; Lejeune, F.; Koelmel, K. F.; Geffeler, O.; Hille, P. et al. (1994): Recreational exposure to sunlight and lack of information as risk factors for cutaneous malignant melanoma. Results of an European

Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) case-control study in Belgium, France and Germany. The EORTC Malignant Melanoma Cooperative Group. In: *Melanoma Res.* 4 (2), S. 79–85.

7. Azzola, M. F.; Shaw, H. M.; Thompson, J. F.; Soong, S.-J.; Scolyer, R. A.; Watson, G. F. et al. (2003): Tumor mitotic rate is a more powerful prognostic indicator than ulceration in patients with primary cutaneous melanoma: an analysis of 3661 patients from a single center. In: *Cancer* 97 (6), S. 1488–1498.
8. Baade, P. D.; Green, A. C.; Smithers, B. M.; Aitken, J. F. (2011): Trends in melanoma incidence among children: possible influence of sun-protection programs. In: *Expert Rev Anticancer Ther* 11 (5), S. 661–664.
9. Balch, C. M.; Murad, T. M.; Soong, S. J.; Ingalls, A. L.; Halpern, N. B.; Maddox, W. A. (1978): A multifactorial analysis of melanoma: prognostic histopathological features comparing Clark's and Breslow's staging methods. In: *Ann Surg* 188 (6), S. 732–742.
10. Balch, C. M.; Soong, S. J.; Gershenwald, J. E.; Thompson, J. F.; Reintgen, D. S.; Cascinelli, N. et al. (2001a): Prognostic factors analysis of 17,600 melanoma patients: validation of the American Joint Committee on Cancer melanoma staging system. In: *J Clin Oncol* 19 (16), S. 3622–3634.
11. Balch, C. M.; Buzaid, A. C.; Soong, S. J.; Atkins, M. B.; Cascinelli, N.; Coit, D. G. et al. (2001b): Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. In: *J Clin Oncol* 19 (16), S. 3635–3648.

12. Balch, C. M.; Gershenwald, J. E.; Soong, S. J.; Thompson, J. F.; Atkins, M. B.; Byrd, D. R. et al. (2009): Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. In: *J. Clin. Oncol* 27 (36), S. 6199–6206.
13. Balch, C. M.; Gershenwald, J. E.; Soong, S. J.; Thompson, J. F. (2011): Update on the melanoma staging system: the importance of sentinel node staging and primary tumor mitotic rate. In: *J Surg Oncol* 104 (4), S. 379–385.
14. Bass, R.; Fernández, A.-M. M.; Ellis, V. (2002): Maspin inhibits cell migration in the absence of protease inhibitory activity. In: *J. Biol. Chem* 277 (49), S. 46845–46848.
15. Bataille, V.; Bishop, J. A.; Sasieni, P.; Swerdlow, A. J.; Pinney, E.; Griffiths, K.; Cuzick, J. (1996): Risk of cutaneous melanoma in relation to the numbers, types and sites of naevi: a case-control study. In: *Br. J. Cancer* 73 (12), S. 1605–1611.
16. Beecken, W.-D.; Engl, T.; Engels, K.; Blumenberg, C.; Oppermann, E.; Camphausen, K. et al. (2006): Clinical relevance of maspin expression in bladder cancer. In: *World J Urol* 24 (3), S. 338–344.
17. Beltran, A. S.; Russo, A.; Lara, H.; Fan, C.; Lizardi, P. M.; Blancafort, P. (2011): Suppression of breast tumor growth and metastasis by an engineered transcription factor. In: *PLoS One* 6 (9), S. e24595.
18. Bettstetter, M.; Woenckhaus, M.; Wild, P. J.; Rummele, P.; Blaszyk, H.; Hartmann, A. et al. (2005): Elevated nuclear maspin expression is associated with microsatellite instability and high tumour grade in colorectal cancer. In: *J Pathol* 205 (5), S. 606–614.

19. Bigbee W.; Herbermann R. B.; in: Holland, J. F.; Frei, E.; Kufe, D. W. (2003): Holland, Frei cancer medicine 6. 6. Aufl. Hamilton, Ont: BC Decker Inc.
20. Blandamura, S.; Giacomelli, L.; Leo, G.; Segato, P.; Ninfo, V. (2006): Nuclear maspin detection in renal cell tumours: possible diagnostic role and correlation with p53 status. In: *Histopathology* 49 (3), S. 274–282.
21. Blesch, A.; Bosserhoff, A. K.; Apfel, R.; Behl, C.; Hessdoerfer, B.; Schmitt, A. et al. (1994): Cloning of a novel malignant melanoma-derived growth-regulatory protein, MIA. In: *Cancer Res* 54 (21), S. 5695–5701.
22. Blum, A.; Soyer, H. P.; Garbe, C.; Kerl, H.; Rassner, G.; Hofmann-Wellenhof, R. (2003a): The dermoscopic classification of atypical melanocytic naevi (Clark naevi) is useful to discriminate benign from malignant melanocytic lesions. In: *Br J Dermatol* 149 (6), S. 1159–1164.
23. Blum, A.; Rassner, G.; Garbe, C. (2003b): Modified ABC-point list of dermoscopy: A simplified and highly accurate dermoscopic algorithm for the diagnosis of cutaneous melanocytic lesions. In: *J Am Acad Dermatol* 48 (5), S. 672–678.
24. Blum, A. (2005): Diagnostisch-dermatoskopische Algorithmen. In: *Hautarzt* 56 (1), S. 81-93; quiz 94-5.
25. Bogdahn, U.; Apfel, R.; Hahn, M.; Gerlach, M.; Behl, C.; Hoppe, J.; Martin, R. (1989): Autocrine tumor cell growth-inhibiting activities from human malignant melanoma. In: *Cancer Res* 49 (19), S. 5358–5363.
26. Bolat, F.; Gumurdulu, D.; Erkanli, S.; Kayaselcuk, F.; Zeren, H.; Ali Vardar, M.; Kuscu, E. (2008): Maspin overexpression correlates with increased

expression of vascular endothelial growth factors A, C, and D in human ovarian carcinoma. In: *Pathol. Res. Pract* 204 (6), S. 379–387.

27. Boltze, C.; Schneider-Stock, R.; Meyer, F.; Peters, B.; Quednow, C.; Hoang-Vu, C.; Roessner, A. (2003a): Maspin in thyroid cancer: its relationship with p53 and clinical outcome. In: *Oncol Rep* 10 (6), S. 1783–1787.
28. Boltze, C.; Schneider-Stock, R.; Quednow, C.; Hinze, R.; Mawrin, C.; Hribaschek, A.; Roessner, A.; Hoang-Vu, C. (2003b): Silencing of the maspin gene by promoter hypermethylation in thyroid cancer. In: *Int J Mol Med*. 2003 Oct; 12(4): 479-84.
29. Boltze, C. (2005): Loss of maspin is a helpful prognosticator in colorectal cancer: a tissue microarray analysis. In: *Pathol. Res. Pract* 200 (11-12), S. 783–790.
30. Bosetti, C.; La Vecchia, C.; Naldi, L.; Lucchini, F.; Negri, E.; Levi, F. (2004): Mortality from cutaneous malignant melanoma in Europe. Has the epidemic levelled off? In: *Melanoma Res*. 14 (4), S. 301–309.
31. Bosserhoff, A. K.; Kaufmann, M.; Kaluza, B.; Bartke, I.; Zirngibl, H.; Hein, R. et al. (1997): Melanoma-inhibiting activity, a novel serum marker for progression of malignant melanoma. In: *Cancer Res* 57 (15), S. 3149–3153.
32. Bosserhoff, A. K.; Golob, M.; Buettner, R.; Landthaler, M.; Hein, R. (1998): MIA ("melanoma inhibitory activity"). Biologische Funktionen und klinische Relevanz beim malignen Melanom. In: *Hautarzt* 49 (10), S. 762–769.

33. Boynton, A.; Oxlad, M. (2011): Melanoma and its relationship with solarium use: health knowledge, attitudes and behaviour of young women. In: *J Health Psychol* 16 (6), S. 969–979.
34. Braeuer, R. R.; Zigler, M.; Villares, G. J.; Dobroff, A. S.; Bar-Eli, M. (2011): Transcriptional control of melanoma metastasis: the importance of the tumor microenvironment. In: *Semin. Cancer Biol* 21 (2), S. 83–88.
35. Breitbart, E. W.; Wende, A.; Mohr, P.; Greinert, R.; Volkmer, B. (2004): Gesundheitsberichterstattung des Bundes, Heft 22 – Hautkrebs, Robert-Koch-Institut, Berlin 2004.
36. Breslow, A. (1970): Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma. In: *Ann. Surg* 172 (5), S. 902–908.
37. Brodell, R. T.; Helms, S. E. (1998): The changing mole. Additional warning signs of malignant melanoma. In: *Postgrad Med* 104 (4), S. 145–148.
38. Busam, K. J.; Chen, Y. T.; Old, L. J.; Stockert, E.; Iversen, K.; Coplan, K. A. et al. (1998): Expression of melan-A (MART1) in benign melanocytic nevi and primary cutaneous malignant melanoma. In: *Am J Surg Pathol* 22 (8), S. 976–982.
39. Callender, G. G.; McMasters, K. M. (2011): What does ulceration of a melanoma mean for prognosis? In: *Adv Surg* 45, S. 225–236.
40. Cao, D.; Zhang, Q.; Wu, L. S.-F.; Salaria, S. N.; Winter, J. W.; Hruban, R. H. et al. (2007): Prognostic significance of maspin in pancreatic ductal adenocarcinoma: tissue microarray analysis of 223 surgically resected cases. In: *Mod Pathol* 20 (5), S. 570–578.

41. Carli, P.; Naldi, L.; Lovati, S.; La Vecchia, C. (2002): The density of melanocytic nevi correlates with constitutional variables and history of sunburns: a prevalence study among Italian schoolchildren. In: *Int. J. Cancer* 101 (4), S. 375–379.
42. Cher, M. L.; Biliran, H. R.; Bhagat, S.; Meng, Y.; Che, M.; Lockett, J. et al. (2003): Maspin expression inhibits osteolysis, tumor growth, and angiogenesis in a model of prostate cancer bone metastasis. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 100 (13), S. 7847–7852.
43. Chua, R.; Setzer, S.; Govindarajan, B.; Sexton, D.; Cohen, C.; Arbiser, J. L. (2009): Maspin expression, angiogenesis, prognostic parameters, and outcome in malignant melanoma. In: *J. Am. Acad. Dermatol* 60 (5), S. 758–766.
44. Clark, W. H.; From, L.; Bernardino, E. A.; Mihm, M. C. (1969): The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. In: *Cancer Res* 29 (3), S. 705–727.
45. Coulie, P. G.; Brichard, V.; Van, P. A.; Wolfel, T.; Schneider, J.; Traversari, C. et al. (1994): A new gene coding for a differentiation antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas. In: *J Exp Med* 180 (1), S. 35–42.
46. Csikos, A.; Mastrojohn, J.; Albanese, T.; Moeller, J.; Radwany, S.; Busa, C. (2010): Physicians' beliefs and attitudes about end-of-life care: a comparison of selected regions in Hungary and the United States. In: *J Pain Symptom Manage* 39 (1), S. 76–87.

47. Czarnecki, D.; Meehan, C. J. (2000): Is the incidence of malignant melanoma decreasing in young Australians? In: *J. Am. Acad. Dermatol* 42 (4), S. 672–674.
48. Dal Pozzo, V.; Benelli, C.; Roscetti, E. (1999): The seven features for melanoma: a new dermoscopic algorithm for the diagnosis of malignant melanoma. In: *Eur J Dermatol* 9 (4), S. 303–308.
49. Dalla-Vorgia, P.; Katsouyanni, K.; Garanis, T. N.; Touloumi, G.; Drogari, P.; Koutselinis, A. (1992): Attitudes of a Mediterranean population to the truth-telling issue. In: *J Med Ethics* 18 (2), S. 67–74.
50. Denk, A. E.; Bettstetter, M.; Wild, P. J.; Hoek, K.; Bataille, F.; Dietmaier, W.; Bosserhoff, A. K. (2007): Loss of maspin expression contributes to a more invasive potential in malignant melanoma. In: *Pigment Cell Res* 20 (2), S. 112–119.
51. Diamandis, E. P. (2004): How are we going to discover new cancer biomarkers? A proteomic approach for bladder cancer. In: *Clin Chem* 50 (5), S. 793–795.
52. Dietmaier, W.; Bettstetter, M.; Wild, P.; Woenckhaus, M.; Rummele, P.; Hartmann, A. et al. (2006): Nuclear Maspin expression is associated with response to adjuvant 5-fluorouracil based chemotherapy in patients with stage III colon cancer. In: *Int J Cancer* 118 (9), S. 2247–2254.
53. Diffey, B. L. (2004): The future incidence of cutaneous melanoma within the UK. In: *Br. J. Dermatol.* 151 (4), S. 868–872.

54. Dobson, A. J.; Leeder, S. R. (1982): Mortality from malignant melanoma in Australia: effects due to country of birth. In: *Int J Epidemiol* 11 (3), S. 207–211.
55. Egberts, F.; Pollex, A.; Egberts, J.-H.; Kaehler, K.; Weichenthal, M.; Hauschild, A. (2008): Long-term survival analysis in metastatic melanoma: serum S100B is an independent prognostic marker and superior to LDH. In: *Onkologie* 31 (7), S. 380–384.
56. Elger, B. S.; Harding, T. W. (2002): Should cancer patients be informed about their diagnosis and prognosis? Future doctors and lawyers differ. In: *J Med Ethics* 28 (4), S. 258–265.
57. Elwood, J. M.; Williamson, C.; Stapleton, P. J. (1986): Malignant melanoma in relation to moles, pigmentation, and exposure to fluorescent and other lighting sources. In: *Br. J. Cancer* 53 (1), S. 65–74.
58. Endsley, M. P.; Hu, Y.; Deng, Y.; He, X.; Warejcka, D. J.; Twining, S. S. et al. (2011): Maspin, the molecular bridge between the plasminogen activator system and beta1 integrin that facilitates cell adhesion. In: *J Biol Chem* 286 (28), S. 24599–24607.
59. Fallowfield, L. J.; Jenkins, V. A.; Beveridge, H. A. (2002): Truth may hurt but deceit hurts more: communication in palliative care. In: *Palliat Med* 16 (4), S. 297–303.
60. Fitzgerald, M.; Oshiro, M.; Holtan, N.; Krager, K.; Cullen, J. J.; Futscher, B.; Domann, F. (2003): Human pancreatic carcinoma cells activate maspin expression through loss of epigenetic control. In: *Neoplasia* 5 (5), S. 427–436.

61. Flórez, A.; Cruces, M. (2004): Melanoma epidemic: true or false? In: *Int. J. Dermatol.* 43 (6), S. 405–407.
62. Friedman, R. J.; Rigel, D. S. (1985): The clinical features of malignant melanoma. In: *Dermatol Clin* 3 (2), S. 271–283.
63. Friedrichsen, M.; Milberg, A. (2006): Concerns about losing control when breaking bad news to terminally ill patients with cancer: physicians' perspective. In: *J Palliat Med* 9 (3), S. 673–682.
64. Fukuda, T.; Sumi, T.; Nobeyama, H.; Yoshida, H.; Matsumoto, Y.; Yasui, T. et al. (2009): Multiple organ failure of tumor-bearing rabbits in cancer cachexia is caused by apoptosis of normal organ cells. In: *Int J Oncol* 34 (1), S. 61–67.
65. Futscher, B. W.; Oshiro, M. M.; Wozniak, R. J.; Holtan, N.; Hanigan, C. L.; Duan, H.; Domann, F. E. (2002): Role for DNA methylation in the control of cell type specific maspin expression. In: *Nat Genet* 31 (2), S. 175–179.
66. Futscher, B. W.; O'Meara, M. M.; Kim, C. J.; Rennels, M. A.; Lu, D.; Gruman, L. M. et al. (2004): Aberrant methylation of the maspin promoter is an early event in human breast cancer. In: *Neoplasia* 6 (4), S. 380–389.
67. Gandini, S.; Sera, F.; Cattaruzza, M. S.; Pasquini, P.; Picconi, O.; Boyle, P.; Melchi, C. F. (2005): Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. In: *Eur. J. Cancer* 41 (1), S. 45–60.
68. Garbe, C.; Krüger, S.; Stadler, R.; Guggenmoos-Holzmann, I.; Orfanos, C. E. (1989): Markers and relative risk in a German population for developing malignant melanoma. In: *Int. J. Dermatol.* 28 (8), S. 517–523.

69. Garbe, C.; Büttner, P.; Bertz, J.; Burg, G.; d'Hoedt, B.; Drepper, H. et al. (1995): Primary cutaneous melanoma. Identification of prognostic groups and estimation of individual prognosis for 5093 patients. In: *Cancer* 75 (10), S. 2484–2491.
70. Garbe, C.; Blum, A. (2001): Epidemiology of cutaneous melanoma in Germany and worldwide. In: *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* 14 (5), S. 280–290.
71. Garbe, C.; Lasithiotakis, K.G (2006a): Epidemiologie des Melanoms der Haut; in: Garbe C.: Management des Melanoms. Diagnosestellung - Therapie - Nachsorge. Unter Mitarbeit von Garbe C., Cerroni L. und Kerl H.; Springer Berlin.
72. Garbe, C. (2006b); Vorwort, in: Garbe C.: Management des Melanoms. Diagnosestellung - Therapie - Nachsorge. Unter Mitarbeit von Garbe C., Cerroni L. und Kerl H.; Springer, Berlin.
73. Garbe, C.; Cerroni L.; Kerl H. (2006c); Histopathologie des Melanoms, in: Garbe C.: Management des Melanoms. Diagnosestellung - Therapie - Nachsorge. Unter Mitarbeit von Garbe C., Cerroni L. und Kerl H.; Springer, Berlin.
74. Garbe, C.; Schadendorf, D.; Stolz, W.; Volkenandt, M.; Reinhold, U.; Kortmann, R.-D. et al. (2008): Short German guidelines: malignant melanoma. In: *J Dtsch Dermatol Ges* 6 Suppl 1, S. S9-S14.
75. Garbe, C.; Leiter, U. (2009): Melanoma epidemiology and trends. In: *Clin Dermatol* 27 (1), S. 3–9.

76. Garbe, C.; Peris, K.; Hauschild, A.; Saiag, P.; Middleton, M.; Spatz, A. et al. (2010): Diagnosis and treatment of melanoma: European consensus-based interdisciplinary guideline. In: *Eur. J. Cancer* 46 (2), S. 270–283.
77. Guo, H. B.; Stoffel-Wagner, B.; Bierwirth, T.; Mezger, J.; Klingmuller, D. (1995): Clinical significance of serum S100 in metastatic malignant melanoma. In: *Eur J Cancer* 31 (11), S. 1898–1902.
78. Hall, D. C.; Johnson-Pais, T. L.; Grubbs, B.; Bernal, R.; Leach, R. J.; Padalecki, S. S. (2008): Maspin reduces prostate cancer metastasis to bone. In: *Urol Oncol* 26 (6), S. 652–658.
79. Hari, D.; Mark, Z.; Bharati, D.; Khadka, P. (2007): Patients' attitude towards concept of right to know. In: *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)* 5 (4), S. 591–595.
80. Hauschild, A.; Engel, G.; Brenner, W.; Gläser, R.; Mönig, H.; Henze, E.; Christophers, E. (1999a): S100B protein detection in serum is a significant prognostic factor in metastatic melanoma. In: *Oncology* 56 (4), S. 338–344.
81. Hauschild, A.; Michaelson, J.; Brenner, W.; Rudolph, P.; Glaser, R.; Henze, E.; Christophers, E. (1999b): Prognostic significance of serum S100B detection compared with routine blood parameters in advanced metastatic melanoma patients. In: *Melanoma Res* 9 (2), S. 155–161.
82. Helm, T. N. (2004): Iatrogenic ulceration of melanoma is not of prognostic significance. In: *J. Am. Acad. Dermatol* 50 (3), S. 487; author reply 487-8.
83. Henry, N. L.; Hayes, D. F. (2006): Uses and abuses of tumor markers in the diagnosis, monitoring, and treatment of primary and metastatic breast cancer. In: *Oncologist* 11 (6), S. 541–552.

84. Hirai, K.; Koizumi, K.; Haraguchi, S.; Hirata, T.; Mikami, I.; Fukushima, M. et al. (2005): Prognostic significance of the tumor suppressor gene maspin in non-small cell lung cancer. In: *Ann. Thorac. Surg* 79 (1), S. 248–253.
85. Hofmann-Wellenhof, R.; Blum, A.; Wolf, I. H.; Piccolo, D.; Kerl, H.; Garbe, C.; Soyer, H. P. (2001): Dermoscopic classification of atypical melanocytic nevi (Clark nevi). In: *Arch Dermatol* 137 (12), S. 1575–1580.
86. Horton, R. (2011): Truth telling in clinical practice. In: *Lancet* 378 (9798), S. 1197.
87. Hosaka, T.; Awazu, H.; Fukunishi, I.; Okuyama, T.; Wogan, J. (1999): Disclosure of true diagnosis in Japanese cancer patients. In: *Gen Hosp Psychiatry* 21 (3), S. 209–213.
88. Ito, R.; Nakayama, H.; Yoshida, K.; Oda, N.; Yasui, W. (2004a): Loss of maspin expression is associated with development and progression of gastric carcinoma with p53 abnormality. In: *Oncol Rep* 12 (5), S. 985–990.
89. Ito, Y.; Yoshida, H.; Tomoda, C.; Uruno, T.; Takamura, Y.; Miya, A. et al. (2004b): Maspin expression is directly associated with biological aggressiveness of thyroid carcinoma. In: *Thyroid* 14 (1), S. 13–18.
90. Iwashyna, T. J.; Christakis, N. A. (2001): Physicians, patients, and prognosis. In: *West J Med* 174 (4), S. 253–254.
91. Jiang, N.; Meng, Y.; Zhang, S.; Mensah-Osman, E.; Sheng, S. (2002): Maspin sensitizes breast carcinoma cells to induced apoptosis. In: *Oncogene* 21 (26), S. 4089–4098.

92. Juengel, E.; Beecken, W.-D. C.; Mundiyanapurath, S.; Engl, T.; Jonas, D.; Blaheta, R. A. (2010): Maspin modulates adhesion of bladder carcinoma cells to vascular endothelium. In: *World J Urol* 28 (4), S. 465–471.
93. Katakura, H.; Takenaka, K.; Nakagawa, M.; Sonobe, M.; Adachi, M.; Ito, S. et al. (2006): Maspin gene expression is a significant prognostic factor in resected non-small cell lung cancer (NSCLC). Maspin in NSCLC. In: *Lung Cancer* 51 (3), S. 323–328.
94. Kawakami, Y.; Eliyahu, S.; Sakaguchi, K.; Robbins, P. F.; Rivoltini, L.; Yannelli, J. R. et al. (1994): Identification of the immunodominant peptides of the MART-1 human melanoma antigen recognized by the majority of HLA-A2-restricted tumor infiltrating lymphocytes. In: *J Exp Med* 180 (1), S. 347–352.
95. Khalkhali-Ellis, Z. (2006): Maspin: the new frontier. In: *Clin. Cancer Res* 12 (24), S. 7279–7283.
96. Kim, J.; Jang, K.-T.; Kim, K. H.; Park, J. W.; Chang, B.; Lee, K. H. et al. (2010): Aberrant maspin expression is involved in early carcinogenesis of gallbladder cancer. In: *Tumour Biol* 31 (5), S. 471–476.
97. Kreusch, J.; Rassner, G. (1991): Standardisierte auflichtmikroskopische Unterscheidung melanozytischer und nichtmelanozytischer Pigmentmale. In: *Hautarzt* 42 (2), S. 77–83.
98. Kuchelmeister, C.; Schaumburg-Lever, G.; Garbe, C. (2000): Acral cutaneous melanoma in caucasians: clinical features, histopathology and prognosis in 112 patients. In: *Br. J. Dermatol* 143 (2), S. 275–280.

99. Lang, G. (2006): Histotechnik. Praxislehrbuch für die Biomedizinische Analytik. Springer; New York, Wien.
100. Law, R. H. P.; Irving, J. A.; Buckle, A. M.; Ruzyla, K.; Buzza, M.; Bashtannyk-Puhalovich, T. A. et al. (2005): The high resolution crystal structure of the human tumor suppressor maspin reveals a novel conformational switch in the G-helix. In: *J. Biol. Chem* 280 (23), S. 22356–22364.
101. Lee, M.; Suh, C.; Li, Z.-H. (2006): Clinicopathological significance of maspin expression in breast cancer. In: *J Korean Med Sci* 21 (2), S. 309–314.
102. Leiter, U.; Buettner, P. G.; Eigentler, T. K.; Garbe, C. (2004): Prognostic factors of thin cutaneous melanoma: an analysis of the central malignant melanoma registry of the german dermatological society. In: *J. Clin. Oncol.* 22 (18), S. 3660–3667.
103. Li, H. W. R.; Leung, S. W.; Chan, C. S. S.; Yu, M. M.-Y.; Wong, Y. F. (2007): Expression of maspin in endometrioid adenocarcinoma of endometrium. In: *Oncol Rep* 17 (2), S. 393–398.
104. Lim, Y. J.; Lee, J. K.; Jang, W. Y.; Song, S. Y.; Lee, K. T.; Rhee, J. C. (2004): Prognostic significance of maspin in pancreatic ductal adenocarcinoma. In: *Korean J Intern Med* 19 (1), S. 15–18.
105. Lin, Z.; Liu, Y.; Sun, Y.; He, X. (2011): Expression of Ets-1, Ang-2 and maspin in ovarian cancer and their role in tumor angiogenesis. In: *J Exp Clin Cancer Res* 30, S. 31.

106. Liu, W.; Zhou, J.; Geng, G.; Shi, Q.; Sauriol, F.; Wu, J. H. (2012): Antiandrogenic, Maspin Induction, and Antiprostata Cancer Activities of Tanshinone IIA and Its Novel Derivatives with Modification in Ring A. In: *J Med Chem*.
107. Lobb, E. A.; Kenny, D. T.; Butow, P. N.; Tattersall, M. H. (2001): Women's preferences for discussion of prognosis in early breast cancer. In: *Health Expect* 4 (1), S. 48–57.
108. Long, C. C.; Marks, R. (1995): Increased risk of skin cancer: another Celtic myth? A review of Celtic ancestry and other risk factors for malignant melanoma and nonmelanoma skin cancer. In: *J. Am. Acad. Dermatol.* 33 (4), S. 658–661.
109. Long, C. C.; Darke, C.; Marks, R. (1998): Celtic ancestry, HLA phenotype and increased risk of skin cancer. In: *Br. J. Dermatol.* 138 (4), S. 627–630.
110. Maass, N.; Hojo, T.; Rosel, F.; Ikeda, T.; Jonat, W.; Nagasaki, K. (2001a): Down regulation of the tumor suppressor gene maspin in breast carcinoma is associated with a higher risk of distant metastasis. In: *Clin Biochem* 34 (4), S. 303–307.
111. Maass, N.; Teffner, M.; Rosel, F.; Pawaresch, R.; Jonat, W.; Nagasaki, K.; Rudolph, P. (2001b): Decline in the expression of the serine proteinase inhibitor maspin is associated with tumour progression in ductal carcinomas of the breast. In: *J Pathol* 195 (3), S. 321–326.
112. Maesawa, C.; Ogasawara, S.; Yashima-Abo, A.; Kimura, T.; Kotani, K.; Masuda, S. et al. (2006): Aberrant maspin expression in gallbladder

- epithelium is associated with intestinal metaplasia in patients with cholelithiasis. In: *J Clin Pathol* 59 (3), S. 328–330.
113. Marioni, G.; Blandamura, S.; Giacomelli, L.; Calgaro, N.; Segato, P.; Leo, G. et al. (2005): Nuclear expression of maspin is associated with a lower recurrence rate and a longer disease-free interval after surgery for squamous cell carcinoma of the larynx. In: *Histopathology* 46 (5), S. 576–582.
 114. Marioni, G.; D'Alessandro, E.; Giacomelli, L.; Filippis, C. de; Calgaro, N.; Sari, M. et al. (2006): Maspin nuclear localization is related to reduced density of tumour-associated micro-vessels in laryngeal carcinoma. In: *Anticancer Res* 26 (6C), S. 4927–4932.
 115. McDermott, N. C.; Hayes, D. P.; al-Sader, M. H.; Hogan, J. M.; Walsh, C. B.; Kay, E. W.; Leader, M. B. (1998): Identification of vertical growth phase in malignant melanoma. A study of interobserver agreement. In: *Am J Clin Pathol* 110 (6), S. 753–757.
 116. McKenzie, S.; Sakamoto, S.; Kyprianou, N. (2008): Maspin modulates prostate cancer cell apoptotic and angiogenic response to hypoxia via targeting AKT. In: *Oncogene* 27 (57), S. 7171–7179.
 117. McShane, L. M.; Altman, D. G.; Sauerbrei, W.; Taube, S. E.; Gion, M.; Clark, G. M. (2005): REporting recommendations for tumour MARKer prognostic studies (REMARK). In: *Eur J Cancer* 41 (12), S. 1690–1696.
 118. Menzies, S. W.; Ingvar, C.; Crotty, K. A.; McCarthy, W. H. (1996): Frequency and morphologic characteristics of invasive melanomas lacking

- specific surface microscopic features. In: *Arch Dermatol* 132 (10), S. 1178–1182.
119. Mhaweche-Fauceglia, P.; Dulguerov, P.; Beck, A.; Bonet, M.; Allal, A. S. (2007): Value of ezrin, maspin and nm23-H1 protein expressions in predicting outcome of patients with head and neck squamous-cell carcinoma treated with radical radiotherapy. In: *J. Clin. Pathol* 60 (2), S. 185–189.
 120. Moll, I. (2005): *Dermatologie*; Thieme, Stuttgart.
 121. Murai, S.; Maesawa, C.; Masuda, T.; Sugiyama, T. (2006): Aberrant maspin expression in human endometrial cancer. In: *Cancer Sci* 97 (9), S. 883–888.
 122. Murali, R.; Hughes, M. T.; Fitzgerald, P.; Thompson, J. F.; Scolyer, R. A. (2009): Interobserver variation in the histopathologic reporting of key prognostic parameters, particularly clark level, affects pathologic staging of primary cutaneous melanoma. In: *Ann Surg* 249 (4), S. 641–647.
 123. Nachbar, F.; Stolz, W.; Merkle, T.; Cognetta, A. B.; Vogt, T.; Landthaler, M. et al. (1994): The ABCD rule of dermatoscopy. High prospective value in the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. In: *J Am Acad Dermatol* 30 (4), S. 551–559.
 124. Nakagawa, M.; Katakura, H.; Adachi, M.; Takenaka, K.; Yanagihara, K.; Otake, Y. et al. (2006): Maspin expression and its clinical significance in non-small cell lung cancer. In: *Ann Surg Oncol* 13 (11), S. 1517–1523.
 125. Nakashima, T.; Yasumatsu, R.; Kuratomi, Y.; Masuda, M.; Kuwano, T.; Toh, S. et al. (2006): Role of squamous cell carcinoma antigen 1

- expression in the invasive potential of head and neck squamous cell carcinoma. In: *Head Neck* 28 (1), S. 24–30.
126. Narayanan, D. L.; Saladi, R. N.; Fox, J. L. (2010): Ultraviolet radiation and skin cancer. In: *Int. J. Dermatol.* 49 (9), S. 978–986.
 127. Nash, J. W.; Bhardwaj, A.; Wen, P.; Frankel, W. L. (2007): Maspin is useful in the distinction of pancreatic adenocarcinoma from chronic pancreatitis: a tissue microarray based study. In: *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 15 (1), S. 59–63.
 128. Navarro, R. d. L.; Martins, M. T.; Araujo, V. C. de (2004): Maspin expression in normal and neoplastic salivary gland. In: *J Oral Pathol Med* 33 (7), S. 435–440.
 129. Newton-Bishop, J. A.; Chang, Y.-M.; Iles, M. M.; Taylor, J. C.; Bakker, B.; Chan, M. et al. (2010): Melanocytic nevi, nevus genes, and melanoma risk in a large case-control study in the United Kingdom. In: *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev* 19 (8), S. 2043–2054.
 130. Ngamkitidechakul, C.; Warejcka, D. J.; Burke, J. M.; O'Brien, W. J.; Twining, S. S. (2003): Sufficiency of the reactive site loop of maspin for induction of cell-matrix adhesion and inhibition of cell invasion. Conversion of ovalbumin to a maspin-like molecule. In: *J. Biol. Chem* 278 (34), S. 31796–31806.
 131. Noone, I.; Crowe, M.; Pillay, I.; O'Keeffe, S. T. (2000): Telling the truth about cancer: views of elderly patients and their relatives. In: *Ir Med J* 93 (4), S. 104–105.

132. Novack, D. H.; Plumer, R.; Smith, R. L.; Ochitill, H.; Morrow, G. R.; Bennett, J. M. (1979): Changes in physicians' attitudes toward telling the cancer patient. In: *JAMA* 241 (9), S. 897–900.
133. Ogasawara, S.; Maesawa, C.; Yamamoto, M.; Akiyama, Y.; Wada, K.; Fujisawa, K. et al. (2004): Disruption of cell-type-specific methylation at the Maspin gene promoter is frequently involved in undifferentiated thyroid cancers. In: *Oncogene* 23 (5), S. 1117–1124.
134. Ohike, N.; Maass, N.; Mundhenke, C.; Biallek, M.; Zhang, M.; Jonat, W. et al. (2003): Clinicopathological significance and molecular regulation of maspin expression in ductal adenocarcinoma of the pancreas. In: *Cancer Lett* 199 (2), S. 193–200.
135. Olsen, C. M.; Carroll, H. J.; Whiteman, D. C. (2010): Estimating the attributable fraction for cancer: A meta-analysis of nevi and melanoma. In: *Cancer Prev Res (Phila)* 3 (2), S. 233–245.
136. Otto, M.; Holthusen, S.; Bahn, E.; Söhnchen, N.; Wiltfang, J.; Geese, R. et al. (2000): Boxing and running lead to a rise in serum levels of S-100B protein. In: *Int J Sports Med* 21 (8), S. 551–555.
137. Pehamberger, H.; Steiner, A.; Wolff, K. (1987): In vivo epiluminescence microscopy of pigmented skin lesions. I. Pattern analysis of pigmented skin lesions. In: *J Am Acad Dermatol* 17 (4), S. 571–583.
138. Pemberton, P. A.; Wong, D. T.; Gibson, H. L.; Kiefer, M. C.; Fitzpatrick, P. A.; Sager, R.; Barr, P. J. (1995): The tumor suppressor maspin does not undergo the stressed to relaxed transition or inhibit trypsin-like serine

- proteases. Evidence that maspin is not a protease inhibitory serpin. In: *J Biol Chem* 270 (26), S. 15832–15837.
139. Pemberton, P. A.; Tipton, A. R.; Pavloff, N.; Smith, J.; Erickson, J. R.; Mouchabeck, Z. M.; Kiefer, M. C. (1997): Maspin is an intracellular serpin that partitions into secretory vesicles and is present at the cell surface. In: *J. Histochem. Cytochem* 45 (12), S. 1697–1706.
 140. Pimentel, F. L.; Ferreira, J. S.; Vila Real, M.; Mesquita, N. F.; Maia-Gonçalves, J. P. (1999): Quantity and quality of information desired by Portuguese cancer patients. In: *Support Care Cancer* 7 (6), S. 407–412.
 141. Piris, A.; Mihm, M. C., JR.; Duncan, L. M. (2011): AJCC melanoma staging update: impact on dermatopathology practice and patient management. In: *J Cutan Pathol* 38 (5), S. 394–400.
 142. Reed, R. J. (1976): Acral lentiginous melanoma. In: Hartmann W (ed) *New concept in surgical pathology of the skin*. John Wiley & Sons, New York, pp 89–90
 143. Reintgen, D. S.; Cox, C.; Slingluff, C. L. J.; Seigler, H. F. (1992): Recurrent malignant melanoma: the identification of prognostic factors to predict survival. In: *Ann Plast Surg* 28 (1), S. 45–49.
 144. Reis-Filho, J. S.; Torio, B.; Albergaria, A.; Schmitt, F. C. (2002): Maspin expression in normal skin and usual cutaneous carcinomas. In: *Virchows Arch* 441 (6), S. 551–558.
 145. Reitz, M. (2007): Hautkrebs bei alten Hochkulturen, in: Jung, Ernst G.: *Kleine Kulturgeschichte der Haut*. Steinkopff, Darmstadt.

146. Rose, S. L.; Fitzgerald, M. P.; White, N. O.; Hitchler, M.; Futscher, B. W.; De, G. K.; Domann, F. E. (2006): Epigenetic regulation of maspin expression in human ovarian carcinoma cells. In: *Gynecol Oncol* 102 (2), S. 319–324.
147. Ruiter, D. J.; Testori, A.; Eggermont, A. M.; Punt, C. J. (2001): The AJCC staging proposal for cutaneous melanoma: comments by the EORTC Melanoma Group. In: *Ann. Oncol* 12 (1), S. 9–11.
148. Schaefer, J. S.; Zhang, M. (2003): Role of maspin in tumor metastasis and angiogenesis. In: *Curr. Mol. Med* 3 (7), S. 653–658.
149. Schmitz, C.; Brenner, W.; Henze, E.; Christophers, E.; Hauschild, A. (2000): Comparative study on the clinical use of protein S-100B and MIA (melanoma inhibitory activity) in melanoma patients. In: *Anticancer Res* 20 (6D), S. 5059–5063.
150. Scolyer, R. A.; Shaw, H. M.; Thompson, J. F.; Li, L.-X.; Colman, M. H.; Lo, S. K. et al. (2003): Interobserver reproducibility of histopathologic prognostic variables in primary cutaneous melanomas. In: *Am J Surg Pathol* 27 (12), S. 1571–1576.
151. Secord, A. A.; Lee, P. S.; Darcy, K. M.; Havrilesky, L. J.; Grace, L. A.; Marks, J. R.; Berchuck, A. (2006): Maspin expression in epithelial ovarian cancer and associations with poor prognosis: a Gynecologic Oncology Group study. In: *Gynecol. Oncol* 101 (3), S. 390–397.
152. Seftor, R. E.; Seftor, E. A.; Sheng, S.; Pemberton, P. A.; Sager, R.; Hendrix, M. J. (1998): maspin suppresses the invasive phenotype of human breast carcinoma. In: *Cancer Res* 58 (24), S. 5681–5685.

153. Seneca, L. A. (1999): *Hercules furens*. Brill, Leiden.
154. Shahidi, J. (2010): Not telling the truth: circumstances leading to concealment of diagnosis and prognosis from cancer patients. In: *Eur J Cancer Care (Engl)* 19 (5), S. 589–593.
155. Sheng, S.; Carey, J.; Seftor, E. A.; Dias, L.; Hendrix, M. J.; Sager, R. (1996): Maspin acts at the cell membrane to inhibit invasion and motility of mammary and prostatic cancer cells. In: *Proc Natl Acad Sci U S A* 93 (21), S. 11669–11674.
156. Shi, H. Y.; Zhang, W.; Liang, R.; Abraham, S.; Kittrell, F. S.; Medina, D.; Zhang, M. (2001): Blocking tumor growth, invasion, and metastasis by maspin in a syngeneic breast cancer model. In: *Cancer Res* 61 (18), S. 6945–6951.
157. Shi, H. Y.; Liang, R.; Templeton, N. S.; Zhang, M. (2002): Inhibition of breast tumor progression by systemic delivery of the maspin gene in a syngeneic tumor model. In: *Mol Ther* 5 (6), S. 755–761.
158. Solomon, L. A.; Munkarah, A. R.; Schimp, V. L.; Arabi, M. H.; Morris, R. T.; Nassar, H.; Ali-Fehmi, R. (2006): Maspin expression and localization impact on angiogenesis and prognosis in ovarian cancer. In: *Gynecol. Oncol* 101 (3), S. 385–389.
159. Son, H. J.; Sohn, T.-S.; Song, S. Y.; Lee, J. H.; Rhee, J. C. (2002): Maspin expression in human gastric adenocarcinoma. In: *Pathol Int* 52 (8), S. 508–513.

160. Song, S. Y.; Lee, S. K.; Kim, D. H.; Son, H. J.; Kim, H. J.; Lim, Y. J. et al. (2002): Expression of maspin in colon cancers: its relationship with p53 expression and microvessel density. In: *Dig Dis Sci* 47 (8), S. 1831–1835.
161. Song, S. Y.; Son, H. J.; Kim, M. H.; Nam, E. S.; Rhee, J. C.; Park, C. (2007): Prognostic significance of maspin expression in human gastric adenocarcinoma. In: *Hepatogastroenterology* 54 (75), S. 973–976.
162. Sood, A. K.; Fletcher, M. S.; Gruman, L. M.; Coffin, J. E.; Jabbari, S.; Khalkhali-Ellis, Z. et al. (2002): The paradoxical expression of maspin in ovarian carcinoma. In: *Clin. Cancer Res* 8 (9), S. 2924–2932.
163. Sopel, M.; Kasprzyk, I.; Berdowska, I. (2005): Maspin and c-erbB-2 expression in correlation with microvessel density in invasive ductal breast cancer. In: *Folia Histochem Cytobiol* 43 (2), S. 109–116.
164. Soyer, H. P.; Argenziano, G.; Zalaudek, I.; Corona, R.; Sera, F.; Talamini, R. et al. (2004): Three-point checklist of dermoscopy. A new screening method for early detection of melanoma. In: *Dermatology* 208 (1), S. 27–31.
165. Spatz, A.; Cook, M. G.; Elder, D. E.; Piepkorn, M.; Ruiter, D. J.; Barnhill, R. L. (2003): Interobserver reproducibility of ulceration assessment in primary cutaneous melanomas. In: *Eur J Cancer* 39 (13), S. 1861–1865.
166. Stark, A. M.; Schem, C.; Maass, N.; Hugo, H. H.; Jonat, W.; Mehdorn, H. M.; Held-Feindt, J. (2010): Expression of metastasis suppressor gene maspin is reduced in breast cancer brain metastases and correlates with the estrogen receptor status. In: *Neurol Res* 32 (3), S. 303–308.

167. Stolz, W.; Tönjes, S.; Schöll, M. (2004): Farbatlas der Dermatoskopie. Thieme, Stuttgart.
168. Strub, T.; Giuliano, S.; Ye, T.; Bonet, C.; Keime, C.; Kobi, D. et al. (2011): Essential role of microphthalmia transcription factor for DNA replication, mitosis and genomic stability in melanoma. In: *Oncogene* 30 (20), S. 2319–2332.
169. Sugimoto, S.; Maass, N.; Takimoto, Y.; Sato, K.; Minei, S.; Zhang, M. et al. (2004): Expression and regulation of tumor suppressor gene maspin in human bladder cancer. In: *Cancer Lett* 203 (2), S. 209–215.
170. Surowiak, P.; Materna, V.; Drag-Zalesinska, M.; Wojnar, A.; Kaplenko, I.; Spaczynski, M. et al. (2006): Maspin expression is characteristic for cisplatin-sensitive ovarian cancer cells and for ovarian cancer cases of longer survival rates. In: *Int J Gynecol Pathol* 25 (2), S. 131–139.
171. Takanami, I.; Abiko, T.; Koizumi, S. (2008): Expression of maspin in non-small-cell lung cancer: correlation with clinical features. In: *Clin Lung Cancer* 9 (6), S. 361–366.
172. Tellez, C. S.; Shen, L.; Estécio, M. R. H.; Jelinek, J.; Gershenwald, J. E.; Issa, J.-P. J. (2009): CpG island methylation profiling in human melanoma cell lines. In: *Melanoma Res* 19 (3), S. 146–155.
173. Terashima, M.; Maesawa, C.; Oyama, K.; Ohtani, S.; Akiyama, Y.; Ogasawara, S. et al. (2005): Gene expression profiles in human gastric cancer: expression of maspin correlates with lymph node metastasis. In: *Br J Cancer* 92 (6), S. 1130–1136.

174. Thompson, J. F.; Shaw, H. M. (2005): Who should treat patients with primary melanoma? In: *Br. J. Dermatol.* 153 (2), S. 459-60; author reply 458-9.
175. Thomsen, O. O.; Wulff, H. R.; Martin, A.; Singer, P. A. (1993): What do gastroenterologists in Europe tell cancer patients? In: *Lancet* 341 (8843), S. 473–476.
176. Tompkins, V. N. (1953): Cutaneous melanoma: ulceration as a prognostic sign. In: *Cancer* 6 (6), S. 1215–1218.
177. Tronnier, M.; Garbe, C.; Brocker, E. B.; Stadler, R.; Steinkraus, V.; Soyer, H. P.; Wolff, H. H. (1997): Standards der histopathologischen Diagnose maligner Melanome. Empfehlungen der Arbeitsgruppe des Zentralregisters Malignes Melanom der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft. In: *Hautarzt* 48 (10), S. 720–729.
178. Tsoli, E.; Tsantoulis, P. K.; Papalambros, A.; Perunovic, B.; England, D.; Rawlands, D. A. et al. (2007): Simultaneous evaluation of maspin and CXCR4 in patients with breast cancer. In: *J. Clin. Pathol* 60 (3), S. 261–266.
179. Tsuji, T.; Umekita, Y.; Ohi, Y.; Kamio, M.; Douchi, T.; Yoshida, H. (2007): Maspin expression is up-regulated during the progression of endometrioid endometrial carcinoma. In: *Histopathology* 51 (6), S. 871–874.
180. Tucker, M. A.; Goldstein, A. M. (2003): Melanoma etiology: where are we? In: *Oncogene* 22 (20), S. 3042–3052.

181. Ugurel, S. (2006): in Becker, J. C.: Malignes Melanom. Standards und Innovationen in Diagnostik und Therapie ; mit 35 Tabellen. Hg. v. Ulrich R. Hengge. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln.
182. Ugurel, S.; Utikal, J.; Becker, J. C. (2009): Tumor biomarkers in melanoma. In: *Cancer Control* 16 (3), S. 219–224.
183. Ulrich, J. (2006): Prognosefaktoren und Stadieneinteilung; in: Garbe C.: Management des Melanoms. Diagnosestellung - Therapie - Nachsorge. Unter Mitarbeit von Garbe C., Cerroni L. und Kerl H.; Springer, Berlin.
184. Umekita, Y.; Ohi, Y.; Sagara, Y.; Yoshida, H. (2002): Expression of maspin predicts poor prognosis in breast-cancer patients. In: *Int. J. Cancer* 100 (4), S. 452–455.
185. Umekita, Y.; Yoshida, H. (2003): Expression of maspin is up-regulated during the progression of mammary ductal carcinoma. In: *Histopathology* 42 (6), S. 541–545.
186. Umekita, Y.; Souda, M.; Yoshida, H. (2006): Expression of maspin in colorectal cancer. In: *In Vivo* 20 (6B), S. 797–800.
187. Umekita, Y.; Ohi, Y.; Souda, M.; Rai, Y.; Sagara, Y.; Sagara, Y. et al. (2011): Maspin expression is frequent and correlates with basal markers in triple-negative breast cancer. In: *Diagn Pathol* 6 (1), S. 36.
188. Urteaga, O.; Pack, G. T. (1966): On the antiquity of melanoma. In: *Cancer* 19 (5), S. 607–610.
189. Utikal, J.; Schadendorf, D.; Ugurel, S. (2007): Serologic and immunohistochemical prognostic biomarkers of cutaneous malignancies. In: *Arch Dermatol Res* 298 (10), S. 469–477.

190. Vereecken, P.; Reynaert, S.; Lalmand, M. C.; Zouaoui-Boudjeltia, K.; Heenen, M.; van Den Heule, B.; Petein, M. (2006): Decreased immunoreactive maspin expression in intermediate thickness and thick primary melanoma lesions. In: *J. Int. Med. Res.* 34 (1), S. 52–57.
191. Vereecken, P.; Cornelis, F.; Van, B.; Vandersleyen, V.; Baurain, J.-F. (2012): A synopsis of serum biomarkers in cutaneous melanoma patients. In: *Dermatol Res Pract* 2012, S. 260643.
192. Villares, G.; Zigler, M.; Bar-Eli, M. (2011a): The emerging role of the thrombin receptor (PAR-1) in melanoma metastasis--a possible therapeutic target. In: *Oncotarget* 2 (1-2), S. 8–17.
193. Villares, G. J.; Zigler, M.; Dobroff, A. S.; Wang, H.; Song, R.; Melnikova, V. O. et al. (2011b): Protease activated receptor-1 inhibits the Maspin tumor-suppressor gene to determine the melanoma metastatic phenotype. In: *Proc Natl Acad Sci U S A* 108 (2), S. 626–631.
194. Voorhees, J.; Rietjens, J.; Onwuteaka-Philipsen, B.; Deliëns, L.; Cartwright, C.; Faisst, K. et al. (2009): Discussing prognosis with terminally ill cancer patients and relatives: a survey of physicians' intentions in seven countries. In: *Patient Educ Couns* 77 (3), S. 430–436.
195. Wada, K.; Maesawa, C.; Akasaka, T.; Masuda, T. (2004): Aberrant expression of the maspin gene associated with epigenetic modification in melanoma cells. In: *J Invest Dermatol* 122 (3), S. 805–811.
196. Wang, M.-C.; Yang, Y.-M.; Li, X.-H.; Dong, F.; Li, Y. (2004): Maspin expression and its clinicopathological significance in tumorigenesis and

- progression of gastric cancer. In: *World J Gastroenterol* 10 (5), S. 634–637.
197. Yang, Y.; Shi, H.; Li, X.; Yi, Y. (2011): Effects of shRNA targeting maspin on invasion of gastric carcinoma SGC7901 cell line. In: *Oncol Rep* 25 (1), S. 259–265.
 198. Yasumatsu, R.; Nakashima, T.; Hirakawa, N.; Kumamoto, Y.; Kuratomi, Y.; Tomita, K.; Komiyama, S. (2001): Maspin expression in stage I and II oral tongue squamous cell carcinoma. In: *Head Neck* 23 (11), S. 962–966.
 199. Yu, M.; Zheng, H.; Tsuneyama, K.; Takahashi, H.; Nomoto, K.; Xu, H.; Takano, Y. (2007): Paradoxical expression of maspin in gastric carcinomas: correlation with carcinogenesis and progression. In: *Hum Pathol* 38 (8), S. 1248–1255.
 200. Zhang, M.; Volpert, O.; Shi, Y. H.; Bouck, N. (2000): Maspin is an angiogenesis inhibitor. In: *Nat Med* 6 (2), S. 196–199.
 201. Zheng, H. C.; Wang, M. C.; Li, J. Y.; Yang, X. F.; Sun, J. M.; Xin, Y. (2004): Expression of maspin and kai1 and their clinicopathological significance in carcinogenesis and progression of gastric cancer. In: *Chin Med Sci J*. 2004 Sept; 19 (3): 193-8
 202. Zheng, H.; Tsuneyama, K.; Cheng, C.; Takahashi, H.; Cui, Z.; Murai, Y. et al. (2007): Maspin expression was involved in colorectal adenoma-adenocarcinoma sequence and liver metastasis of tumors. In: *Anticancer Res* 27 (1A), S. 259–265.

203. Zou, Z.; Anisowicz, A.; Hendrix, M. J.; Thor, A.; Neveu, M.; Sheng, S. et al. (1994): Maspin, a serpin with tumor-suppressing activity in human mammary epithelial cells. In: *Science* 263 (5146), S. 526–529.

7) Publikationen / Poster

19. Jahrestagung der ADO und 5. Deutscher Hautkrebskongress,
September 2009, Köln (Poster)

3rd World Meeting of Interdisciplinary Melanoma / Skin Cancer Centers,
November 2009, Berlin (Poster)

37. Jahrestagung der ADF, Februar 2010, Lübeck (Poster)

Joint Meeting of the German Society for Cell Biology and the "Frontiers in
Melanoma Research" of the German Melanoma Research Network,
März 2010, Regensburg (Poster)

Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft,
September 2009 (Abstract)

European Journal of Cell Biology, March 2010 (Abstract)

Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft,
2013 (Original Article)
[zur Publikation angenommen]

8) Danksagung

Frau Priv.-Doz. Dr. med. Claudia Pföhler danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und die vorzügliche Betreuung während des Promotionsvorhabens. Ihre Unterstützung, Motivation und Kritik waren mir eine wertvolle und unverzichtbare Hilfe. Auch für die außerordentlichen Möglichkeiten, die Ergebnisse meiner Arbeit auf Kongressen und in Fachmedien präsentieren zu können, gilt ihr mein Dank.

Frau Dr. med. Cornelia Müller gilt mein herzlicher Dank für die wertvolle Begleitung und Betreuung meiner Arbeit. Sie führte mich weit über das Nötige hinaus in die Thematik wissenschaftlichen Arbeitens ein und stand mir immer mit Rat und Tat zur Seite. Ohne ihre Hilfestellung und fachliche Expertise wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Darüber hinaus danke ich ihr für ihren Einsatz, Kongressposter und Publikationen zu ermöglichen.

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Wolfgang Tilgen und Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Vogt danke ich für die Möglichkeit, meine Arbeit an ihrer Klinik durchführen zu können.

Frau Alexandra Stark möchte ich meinen herzlichen Dank aussprechen für die geduldige Einarbeitung in die histopathologische Laborarbeit und für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Experimente.

Den Mitarbeitern von Labor, Fotolabor, Ambulanz und Sekretariat sowie den in die Patientennachsorge involvierten niedergelassenen Ärzten danke ich für die hilfreiche Unterstützung und Mitarbeit.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Stefan Gräber danke ich für die Einführung in die Statistik.

Herrn Philipp Lorenz gilt mein Dank für die Hilfestellung bei der statistischen Auswertung und Interpretation.

Herrn Philipp Baadte danke ich für die softwaretechnische Unterstützung.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Familie und meinen Freunden danken, insbesondere meinen Eltern für ihre uneingeschränkte und grenzenlose Unterstützung sowie für die Ermöglichung meines Studiums und dieser Arbeit, Meriem Oukbir für ihre Geduld und fortwährende Ermutigung sowie Achim Degen für den Rückhalt in schwierigen Phasen.